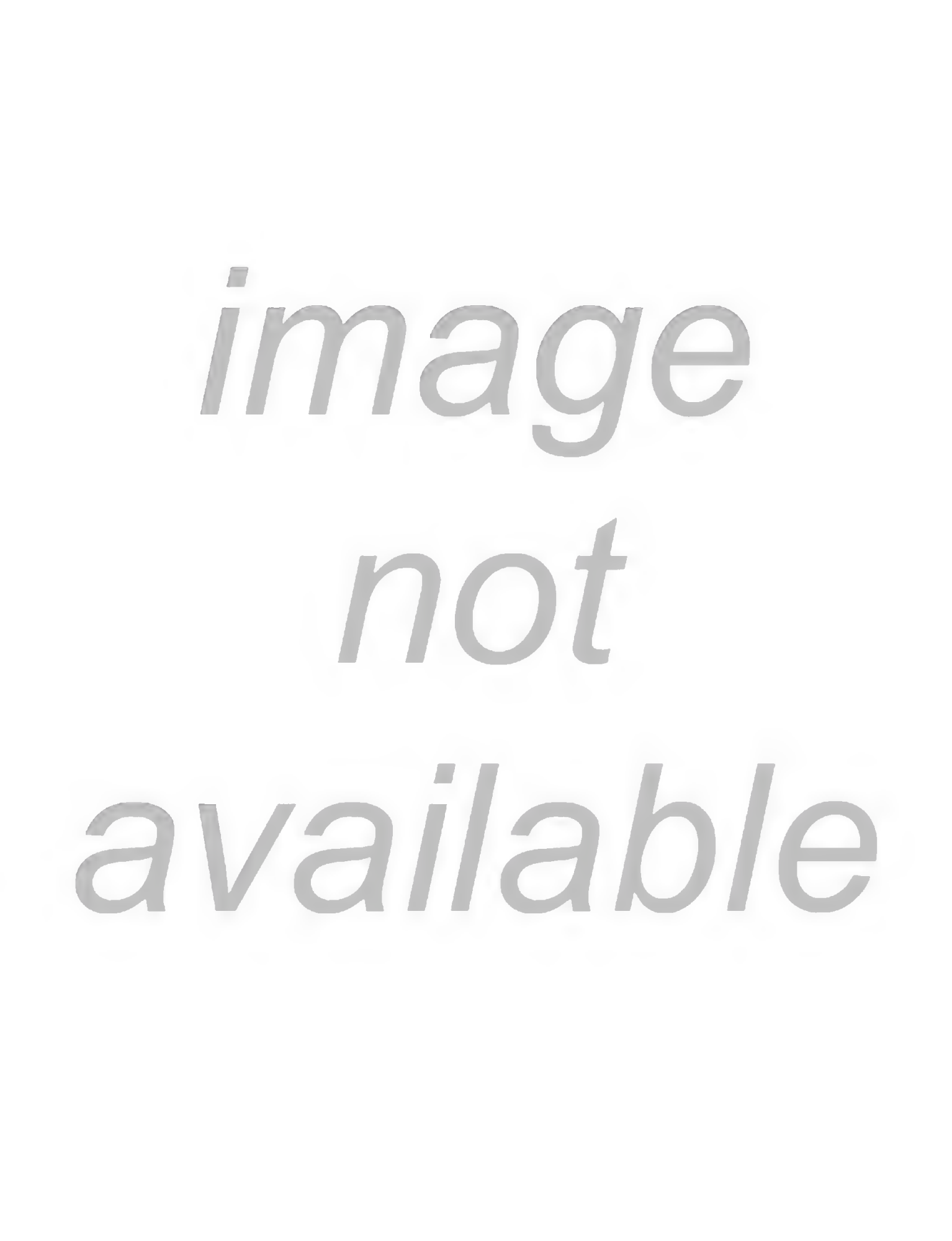


image
not
available

THE LIBRARY
OF THE

CLASS B610.5
BOOK Ar2h

# ARCHIV FÜR HYGIENE.

(BEGRÜNDET VON MAX v. PETTENKOFER.

UNTER MITWIRKUNG

VON

Prof. Dr. O. BOLLINGER, München; Prof. Dr. BONHOFF, Marburg a. L.; Prof. Dr. R. EMMERICH, München; Prof. Dr. F. ERISMANN, Zürich; Prof. Dr. HEIM, Erlangen; Prof. Dr. F. HUEPPE, Prag; Prof. Dr. KABRHEL, Prag; Prof. Dr. F. KRATSCHMER, Wien; Prof. Dr. K. LEHMANN, Würzburg; Prof. Dr. A. LODE, Innsbruck; Prof. Dr. L. PFEIFFER, Rostock; Prof. Dr. W. PRAUSNITZ, Graz; Prof. Dr. F. RENK, Dresden; Prof. Dr. SCHOTTELIUS, Freiburg i. B.; Generaloberarzt Dr. A. SCHUSTER, München; Prof. Dr. WERNICKE, Posen

HERAUSGEGEBEN

VON

J. FORSTER, M. GRUBER, FR. HOFMANN, M. RUBNER,

O. Ö. PROFESSOREN DER HYGIENE UND DIREKTOREN DER HYGIENISCHEN INSTITUTE AN DEN UNIVERSITÄTEN ZU

STRASSBURG MÜNCHEN LEIPZIG BERLIN.

---

## VIERUNDFÜNFZIGSTER BAND.

Mit 4 Abbildungen und 2 Tafeln.

MÜNCHEN UND BERLIN.

DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG.

1905.

Digitized by Google

UNIVERSITY OF
MINNESOTA
LIBRARY

Digitized by Google

# Inhalt.


Seite

Spezifische Sera gegen Infusorien. Von Privatdozent Dr. Robert Röfsle in Kiel. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität München) . . . . . 1

Studien zur relativen Photometrie. III. Teil. Vom Dozenten Dr. Stan. Růžička. (Aus dem k. k. Hygienischen Institnt des Prof. Dr. Gustav Kahrhel in Prag) . . . . . 32

Wasserstoffsuperoxyd als Reinigungs- nnd Desinfektionsmittel im Friseurgewerhe. Von Dr. R. Hilgermann. (Aus dem Hygienischen Institnt der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Rubner) . . . . . 40

Bemerkungen zur Abhandlung von E. Mettler über die bakterizide Wirknng des Lichtes auf gefärhte Nährböden. Von H. v. Tappeiner 49

Weitere Versuche mit photodynamischen, sensihilisierenden Farbstoffen. (Eosin, Erythrosin.) Prüfnng der Wirkung des Tageslichtes auf Lehensfähigkeit nnd Virnlenz von Bakterien, auf Toxine und Antitoxine nnd auf das Lahferment. Von Dr. Hans Hnber. (Aus der hakteriologischen Abteilung des Hygiene-Institntes der Universität Zürich. Vorstand: Privatdozent Dr. W. Silherschmidt) . . . . . 53

Vernichtung von Bakterien im Wasser dnrch Protozoen. Von Dr. Otto Hnntemüller aus Hoya a. d. Weser. (Mit Tafel I) . . . . 89

Über den Gewichtsverlust des Fischfleisches beim Dünsten Von Dr. Friedrich Peters, Assistenten des Institntes. (Aus den Hygienischen Instituten der Universität Berlin. Direktor: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. M. Rnbner) . . . . . 101

Studien über verdorhene Gemüsekonserven. Von Dr. Joseph Belser, dipl. Chemiker. (Aus dem Hygienisch-bakteriologischen Laboratorinm des Eidgen. Polytechniknms. Vorstand: Prof. Dr. O. Roth) 107



APR 23 '30 For. K

466588

Digitized by Google

Seite

Die schützenden Eigenschaften des Blutes von aggressinimmunen Hühnercholeratieren. Von Dr. Edmund Weil, Assistenten des Institutes. Ausgeführt mit Unterstützung der Gesellschaft zur Förderung deutscher Wissenschaft, Kunst und Literatur in Böhmen (Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag. Vorstand: Prof. Hueppe) . . . . . 149

Über Hämolyse im Reagenzglas und im Tierkörper. Von Dr. Oskar R. von Wunschheim, I. Assistenten am Institute. (Aus dem Hygienischen Institute der k. k. Universität Innsbruck. Vorstand: Prof. A. Lode) . . . . . 185

Weitere Erfahrungen über Aggressinimmunität gegen den Shiga-Kruseschen Dysenteriebazillus. Von Dr. Yonetarō Kikuchi. (Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag. Vorstand: Prof. Hueppe) . . . . . 297

Über Bleivergiftungen durch eine Wasserleitung. Von Inspektor Dr. Paul Fortner. (Aus der k. k. allg. Untersuchungsanstalt für Lebensmittel der deutschen Universität in Prag. Vorstand: Prof. Hueppe) . . . . . 325

Die Bakteriendurchlässigkeit der normalen Magendarmschleimhaut im Säuglingsalter. Von Dr. med. R. Hilgermann. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. M. Rubner.) (Mit Tafel II) . . . . . 335

Blutparasiten und Erythrocytolyse. Von Dr. A. Nisle. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. M. Rubner) . . . . . 343

Über den Einfluss des Hungers auf die Bakteriendurchlässigkeit des Intestinaltraktus. Von Prof. M. Ficker. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. M. Rubner) . . . . . 354

Über das Verhalten der aeroben Keime gegenüber der absoluten Sauerstoffentziehung Von Dr. Walther Willimsky. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Rubner) . . . . . 375

Zum Nachweis fäkaler Verunreinigung von Trinkwasser. Von Oberarzt Dr. Christian. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Rubner) . . . . . 386

Sind bei der bakteriziden Wirkung des Blutserums osmotische Vorgänge im Spiele? Von Dr. Georg Leuchs. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität München. Vorstand: Prof. Max Gruber) 396

Digitized by Google

# Spezifische Sera gegen Infusorien.

Von

Privatdozent Dr. **Robert Röfsle**

in Kiel.

(Aus dem Hygienischen Institute der Universität München.)

Die vorliegende Arbeit ging von dem Gedanken aus, zu versuchen, ob sich unsere Kenntnis von der Morphologie der spezifischen Toxin-Wirkung dadurch fördern liefse, dafs man statt der bisher gewöhnlich gebrauchten Antigene grofse einzellige Lebewesen aus der Klasse der Protozoen als Immunisierungsmaterial .verwendete. Es lag dabei zunächst die Absicht zugrunde, an neuen Versuchsobjekten zu prüfen, ob die kürzlich von mir ([15]) beschriebenen morphologischen Veränderungen von Erythrozyten durch das inaktivierte spezifisch lytische Serum der Ausdruck einer allgemeinen Gesetzmäfsigkeit sind. Erwies sich die Annahme, dafs sich auch mit Protozoen Antikörper lytischer und agglutinierender Natur gewinnen liefsen, was nach dem bisher über die Immunitätsreaktionen des Warmblüter-Organismus Bekannten doch grofse Wahrscheinlichkeit hatte, als richtig, so sollte die Wirkungsweise der betreffenden Stoffe auf die Protozoen dann auch im aktiven Zustande studiert werden. In zweifacher Hinsicht, gerade vom morphologischen Standpunkte aus, versprach die Immunisierung mit Protozoen einen Erfolg und bestimmte Vorteile gegenüber der Verwendung der sonst gebräuchlichen Antigene: bei den Bakterien hindert die Kleinheit

der Zelle und die mangelnde Differenzierung in Kernapparat und Zelleib die Beobachtung der durch spezifisch lytische Stoffe erzeugten feineren morphologischen Veränderungen und die Verwertung der Befunde für die Erklärung der einschlägigen Störungen im höheren Organismus; bei den roten Blutkörperchen anderseits erwies sich, ein so günstiges Versuchsobjekt sie in anderer Hinsicht sein mögen, ihre fragliche Zellnatur, ihr ganz eigentümlicher Bau und die Unmöglichkeit zu entscheiden, ob man im gegebenen Falle überhaupt lebende oder tote Objekte vor sich hat, als mifslich. Gegen die Brauchbarkeit der weifsen Blutzellen zum Zweck des Studiums der morphologischen Seite der Toxinwirkung sprach von vornherein die Unmöglichkeit, die Leukozyten unter vollkommen natürlichen Existenzbedingungen zu beobachten, sowie die verhältnismäfsig kurze Dauer ihres Überlebens aufserhalb des Organismus. Alle diese Nachteile haften den freilebigen Protozoen nicht an: ihre Gröfse versprach zunächst eine bequemere Beobachtung der, wie ich nach Analogie der bisherigen Erfahrungen annahm, eintretenden Auflösungserscheinungen, ihr den höheren Zellen wenigstens ähnlicher Bau liefs hoffen, dafs man vergleichende Schlüsse zur menschlichen Pathologie wagen durfte und schliefslich bestand bei ihnen auch die Möglichkeit, die Zellen unter natürlichen Lebensverhältnissen der Toxinwirkung aussetzen und jederzeit entscheiden zu können, ob man lebende oder tote Objekte vor sich habe. Zur Verwendung kamen Infusorien und Flagellaten. Es soll gleich hier vorweggenommen werden, dafs die Annahme, es könnten sich durch Immunisierung mittels dieser Antikörper lytischer Natur gewinnen lassen, als irrtümlich herausgestellt hat. Wenn nun auch die Untersuchung in morphologischer Richtung bisher kein Resultat gehabt hat, so sind die dabei gemachten Beobachtungen doch in anderen Hinsichten mitteilenswert.

Der Immunisierung mit Protozoen stellten sich zunächst dadurch Schwierigkeiten entgegen, dafs es jeweils einer mühseligen Vorarbeit bedurfte, um genügend viel und genügend reines Material zur Behandlung zu erhalten. Was die Menge betrifft, so konnte man hoffen, durch Aufstellung sehr zahlreicher

Zuchtgläser genügende Quantitäten zu bekommen. Als Versuchsobjekt wurde das gewöhnlich für physiologische Zwecke verwendete und deshalb in vielen Eigenschaften schon wohlbekannte Paramäcium caudatum gewählt, das allerdings in den Wintermonaten nicht recht zum Gedeihen zu bringen ist, weshalb die Immunisierung oft in unregelmäßigen Zeitintervallen vorgenommen werden mußte. Eine Reinkultur von Paramäcien und Protozoen überhaupt im bakteriologischen Sinne war ja schon von vornherein ausgeschlossen, da sie sich ja nicht auf osmotischem Wege ernähren, sondern auf körperliche Nahrungsaufnahme angewiesen sind. Paramäcium frißt, ohne in bezug auf die Arten wählerisch zu sein, Bakterien. Es ließ sich also jedenfalls die gleichzeitige Einbringung von Bakterien mit den Paramäcien bei den Injektionen zur Immunisierung nicht umgehen.

Allein alle Versuche, Paramäcien zu isolieren und in isoliertem Zustande mit bestimmten, aus den Aufgüssen gezüchteten Bakterien zu kultivieren, mißlangen. (Diese Versuche wurden gemacht, um Sicherheit dagegen zu gewinnen, daß wenigstens nicht pathogene Mikroorganismen miteingespritzt wurden.) Dagegen gelang dies ohne viel Schwierigkeiten bei einem anderen Infusor, dem Glaukoma scintillans Ehrenbergi. Dieses Infusor verträgt offenbar höhere Grade der Fäulnis als andere Protozoen, so daß, wenn man in einem Aufguß, in dem es von allen möglichen Vertretern aus dem Protistenreich wimmelt, durch Zusatz von Bouillon die Vermehrung der Fäulnisbakterien steigert, das Glaukoma alle anderen Protozoen überwuchert, bis man es zuletzt sogar ausschließlich darin findet. Aus solchen Infusionen wurde dann das Ausgangsmaterial für die Reinzuchten[1])

1) Da der Ausdruck »Kultur« gewöhnlich im Sinne von »Reinkultur« gebraucht wird und also nur für Bakterien verwendet werden kann, so wird im folgenden das deutsche Wort »Zucht« für die künstlich gehaltenen Protozoen-Stämme gebraucht und das Wort »Reinzucht« könnte dann für diejenigen Protozoen-Zuchten reserviert sein, in denen die betreffende Infusorien- oder Flagellaten- (oder Amöben-) Art allein vorhanden ist, gleichgültig, ob sie sich dabei von einer oder von vielen Bakterienspezies dabei ernährt. Der Ausdruck »Reinzucht von Protozoen« ist für denjenigen nicht mißverständlich, der sich bewußt ist, daß es eine solche Reinzucht ohne Bakterien (resp. anderes körperliches Material) nicht geben kann.

des Glaukoma gewonnen, indem es mit Wasser im Sinn einer Nägelischen »Einzelkultur« so verdünnt wurde, dafs man mit einer sterilisierten Pipette ein einzelnes Tier herausfangen und in einen sterilen Erlenmayerschen Kolben einbringen konnte. Der Kolben war bis zu einer bestimmten Marke mit stark verdünnter steriler Bouillon gefüllt (je 1 ccm Bouillon auf 50 ccm Leitungswasser). Es überwog sehr bald eine Bakterienart, welche in der Vermehrung dann mit dem Glaukoma, welches so reichliche Nahrung fand, geradezu wetteiferte. Wurde eine solche Zucht nun wieder stark verdünnt und mit einem Glaukoma daraus ein neuer Erlenmayer-Kolben beschickt, so erhielt man eine Reinzucht von Glaukoma mit einem einheitlichen Futter, einer einzigen Bakterienart. Diejenige, welche ich in meinen Glaukomazuchten hatte, war ein kurzes, plumpes Stäbchen, welches Gelatine verflüssigte. Ich habe es nicht weiter bestimmt, weil Glaukoma sich ebenso sicher mit vielen anderen Bakterienarten zusammen züchten läfst und deshalb eine Indentifizierung jenes Bakteriums keinen Wert hatte. Die Zuchten wurden auf folgende Weise weitergeführt. Der Höhepunkt der Glaukomavermehrung tritt etwa am 4. und 5. Tag nach der Impfung eines auf die angegebene Weise beschickten Erlenmayer-Kolbens ein. Ungefähr um diese Zeit tritt aber, offenbar durch die enorme Gefräfsigkeit der Infusorien, mehr und mehr Bakterienarmut und dadurch auch bald Nahrungsmangel für Glaukoma ein. Sie gehen vom 6. oder 7. Tag ab an Zahl offenbar zurück, vielleicht gelangen in die Flüssigkeiten auch schädliche Stoffwechselprodukte; kurz, wenn man die Zucht am Leben erhalten will, so mufs man frische verdünnte Bouillon zusetzen, am besten indem man einfach die alte Zucht bis auf Reste abgiefst und den Kolben mit verdünnter Bouillon bis zur Marke wieder auffüllt. Es findet dann sofort eine starke Vermehrung der Futterbakterien und des Glaukoma statt, auch wenn die Kultur schon nahe dem Aussterben war (welches allerdings erst nach Wochen stattfindet). Zu Zwecken der Immunisierung erwies es sich am vorteilhaftesten, wenn zu dem Zeitpunkte, zu welchem die stärkste Bevölkerung der Flüssigkeit mit Glaukoma gefunden wurde

etwa am 5. Tage), die Zucht bis auf Reste abgegossen wurde, der Abgufs zentrifugiert und das Zentrifugat, welches die ausgeschleuderten Infusorien und verhältnismäfsig wenig Bakterien enthielt, injiziert wurde, während mit den im Kolben zurückgebliebenen Resten die Zucht durch Auffüllung neuer Nährflüssigkeit für die Bakterien wieder zum Aufblühen gebracht wurde. Glaukoma liefs sich auch in Petrischalen bequem züchten. Es ist zweckmäfsig, so zu verfahren, dafs man $^1/_2$ Agarröhrchen in der Schale schief erstarren läfst, und den übrigen Raum mit Leitungswasser so ausfüllt, dafs der Wasserspiegel eben noch den Rand der Agarschichte erreicht; dies hat den Vorteil, dafs einerseits die des Sauerstoffs bedürftigen Bakterien noch auf dem Agar wachsen können, anderseits aber den frei im Wasser schwimmenden Infusorien zugänglich sind. Die zunehmende Verdunstung des Wassers legt immer nur einen kleinen Teil der Agarfläche trocken. In dieser Weise hielten sich bei Zimmertemperatur Glaukoma-Reinzuchten monatelang ohne Erneuerung. Erreicht die Verdunstung des Wassers solche Grade, dafs die Infusorien nicht mehr frei schwimmen können, so passen sie sich in merkwürdiger Weise den veränderten Lebens- und Bewegungsbedingungen an, indem ihr Protoplasma flüssiger zu werden scheint und sie dadurch befähigt, in einer an die Fortbewegung der Amöben erinnernden Art den Ort zu verändern.

Bei der Anlegung von Protozoen-Reinzuchten kommt es darauf an, Eigenschaften ausfindig zu machen, welche nur der betreffenden Art, die man züchten will, zukommen. Gelang die Reinzucht von Glaukoma dadurch, dafs es intensivere Grade der Fäulnis (und auch höhere molekulare Konzentration der Nährmedien) aushält als andere Protozoen, so fand ich später zufällig, dafs die Paramäcien in anderer Hinsicht widerstandsfähiger sind als die übrigen Tiere, welche man in Infusionen zu finden pflegt: während nämlich z. B. Glaukoma, Stentor, Colpidium, Stylonychia u. a. bei Erwärmung der Infusion auf 37° zugrunde gehen, überleben die Paramäcien allein diese Prozedur. Es ist infolgedessen höchst einfach, grofse Mengen Paramäcien

in Reinzucht, allerdings mit den verschiedenartigsten Bakterien zusammen, zu erhalten[1]), und es gestaltete sich die Gewinnung des Materials zur Immunisierung gegen Paramäcien auf folgende Weise:

Ein sterilisiertes, hohes Becherglas wurde, mit Leitungswasser gefüllt und mit einer sauberen Glasschale bedeckt, mehrere Tage stehen gelassen (frisches Leitungswasser schädigt die Paramäcien), und dann mit Salatblättern, welche in heifses Wasser auf kurze Zeit getaucht waren, versehen. Impft man nun möglichst sorgfältig isolierte Paramäcien ein, so erhält man zu günstiger Jahreszeit in wenigen Tagen eine üppige Zucht. Es ist zunächst nicht immer zu vermeiden, dafs sich auch andere Protisten entwickeln, aber man kann sie in den Gläsern leicht los werden, indem man diese auf 24 Stunden in den Brutschrank von 37° bringt. Dies hat gleichzeitig den Vorteil, dafs durch die erhöhte Temperatur den Paramäcien sehr rasch folgende Teilungen sozusagen aufgezwungen werden, so dafs man in dem Brutschrank gleichzeitig ein Mittel hat, um sie von anderen Protozoen zu isolieren und sie allein zu enormer Vermehrung zu bringen. Die Teilungen wiederholen sich infolge des Einflusses der Wärme so schnell, dafs die Tiere nach der Teilung nicht mehr die alte Gröfse erreichen, und man erhält durch fortgesetzte Züchtung im Brutofen Zuchten von wesentlich kleineren Tieren als die Tiere der Ausgangszuchten waren. Diese Tatsache ist aber für die Zwecke der Immunisierung, bei der es sich zunächst nur um die Gewinnung möglichst grofsen und möglichst einheitlichen Materiales zur Vorbehandlung handelt, gleichgültig. Wenn das faulende Salatwasser sehr dicht von Paramäcien erfüllt schien, so wurde der gröfsere Teil der Zucht zur Zentrifugierung abgegossen und das Glas mit abgestandenem, steril aufbewahrtem Leitungswasser wieder aufgefüllt. Trat Nahrungsmangel ein, was an der zu-

1) Es gibt allerdings eine winzige Flagellaten-Art, Chilodon-Paramäcium, welche sehr gerne mit Paramäcium caudatum vorzukommen pflegt, und welche ihm auch darin gleicht, dafs sie die Erwärmung auf 37° manchmal unter Umständen, die mir nicht näher bekannt sind (Gewöhnung?), übersteht.

nehmenden Magerkeit der Paramäcien leicht erkannt werden kann, so wurden wieder Salatblätter zugegeben usf. Auf diese Weise liefs sich eine üppige Zucht monatelang in denselben Gläsern unterhalten. Gerade der Wechsel von Hunger und starker Ernährung liefert die gröfste Vermehrung und scheint die Zuchten vor den Depressionszuständen zu bewahren, welche zuerst von Calkins uud von R. Hertwig beobachtet wurden. Die »Depression« besteht in der Unfähigkeit zu Assimilation und Vermehrung und tritt am schnellsten in gleich- und übermäfsig gefütterten Zuchten auf.

Das Impfungsmaterial wurde aus den Abgüssen der Zuchtgläser durch Zentrifugieren gewonnen. Diese Arbeit ist um so mühseliger, als es sich nicht empfiehlt, sie sich dadurch zu erleichtern, dafs man die Paramäcien zuvor abtötet und dadurch ihre Eigenbewegung, welche von schwachen Zentrifugen nicht wirksam genug unterdrückt wird, aufhebt. Es erschien vielmehr notwendig, die unveränderte Substanz der Paramäcien zur Injektion zu gebrauchen. Mittels einer kräftigen Zentrifuge kann man bei einiger Übung in einer halben Stunde ungefähr aus einem Liter Zuchtflüssigkeit die Paramäcien erhalten, indem man je zwei je 10 ccm fassende Röhrchen füllt, zehn Sekunden kräftig schleudert, ziemlich rasch anhält und sofort abgiefst, mit neuer Zuchtflüssigkeit anfüllt usf. Die zehn Sekunden genügen, die schweren Paramäcien auszuschleudern, und je kürzer man zentrifugiert, desto weniger Bakterien wird der Bodensatz enthalten.

Zunächst wurden drei Tiere immunisiert: erstens zwei Kaninchen, welche subkutan Paramäcien erhielten, und ein Meerschweinchen, welches ebenfalls subkutan die Zentrifugate der Reinzuchten des Glaukoma scintillans injiziert bekam. Dem Umstande, dafs mit letzterem nur eine und zwar offenbar unschädliche Bakterienart einverleibt wurde, ist es wohl zuzuschreiben, dafs das Meerschweinchen die Behandlung sehr gut vertrug und nur einmal eine harte Infiltration an einer Injektionsstelle aufwies. Dagegen traten bei dem einen Paramäcienkaninchen mehrmals Abszesse auf, da ja mit den Paramäcien unkontrolliert viele und verschiedene Mikroorganismen

unter die Haut gebracht wurden. Von Protozoen wurden aufser den Paramäcien zuweilen recht zahlreiche Vertreter jener schon erwähnten winzigen Flagellatenart, des Chilodon paramäcium mit eingespritzt, weil sie sich zuweilen auch durch erhöhte Temperatur nicht aus der Gesellschaft der Paramäcien vertreiben lassen. Übrigens war dieser Umstand keineswegs mifslich, im Gegenteil, es wurde auf diese Weise von demselben Tiere ein zweiter Antikörper gleichzeitig gewonnen, wie aus der folgenden Schilderung hervorgehen wird. Später wurde zur Kontrolle die Immunisierung eines weiteren Kaninchens gegen Paramäcinen ausgeführt, wobei sich die jüngst von Löffler[8]) angegebene Methode der Antikörpergewinnung sehr bewährt hat. Es standen also im ganzen vier Antiprotozoensera zur Verfügung, über deren Eigenschaften und Wirkungsweise hier berichtet werden soll.

**Serum I.**

Ein junges Kaninchen erhält innerhalb eines Zeitraums von mehreren Monaten im ganzen 4 subkutane Injektionen je 10 ccm sehr dichter Aufschwemmung von Paramäcien und wird 10 Tage nach der letzten Einspritzung entblutet. Es vertrug die Injektionen ohne Störung.

**Serum II.**

Ein junges, im Wachstum begriffenes Kaninchen (2750 g) erhält innerhalb von $2^1/_2$ Monaten im ganzen 6 subkutane Injektionen von Paramäcien (mit Chilodon paramäcium). Das Serum war schon nach der dritten Injektion wirksam. Das Tier litt während der Behandlung an häufiger Abszefsbildung, ohne aber an Gewicht abzunehmen. Die Abszesse wurden eröffnet, entleert und heilten gut. Die Blutproben wurden den Ohrvenen entnommen.

Serum I und II werden, weil in ihren Eigenschaften gleich, zusammen besprochen.

Da die Paramäcien in fauligem Wasser freilebende Tiere und gegenüber höheren Salzkonzentrationen so empfindlich sind, dafs sie in Konzentrationen, welche dem Serum entsprechen, und natürlich auch in diesem selbst in ganz kurzer Zeit unter Zerfliessungserscheinungen und rascher Gerinnung ihres Protoplasmas und Kerns absterben, so mufste vor allem zunächst diejenige schwächste Verdünnung von normalem Kaninchenserum festgestellt werden, welche für die Paramäcien harmlos ist und mit

dieser indifferenten Verdünnung des Normalserums mufste eine gleich schwache Verdünnung des spezifischen Serums verglichen werden. Verhielten sich in dieser die Paramäcien anders als in der gleichen Verdünnung des Normalserums und als die Kontrolltiere aus der Zucht, so konnte das abweichende Verhalten auf besondere Stoffe des spezifischen Serums bezogen werden. Um nicht Irrtümern durch zufällige Verunreinigungen ausgesetzt zu sein, wurden nur sterile Reagenzgläser und Pipetten und sehr sorgfältig gereinigte und getrocknete Uhrschälchen verwendet; die Mischungen von Serum und Paramäcien wurden in Reagenzgläsern angesetzt und gewöhnlich sofort nach Mischung die Hälfte in eine Uhrschale zur Untersuchung mit schwachen Vergröfserungen ausgegossen; zur genaueren Beobachtung wurden einzelne Tiere herausgefangen und unter dem mit Wachsfüfschen gestützten Deckglas, seltener im Hohlobjektträger beobachtet. Die Verdünnungen des Serums wurden durch unmittelbare Vermischung desselben mit der die Paramäcien enthaltenden Zuchtflüssigkeit hergestellt; in besonderen Fällen war es aber erforderlich, die Paramäcien in einem anderen, für sie vollkommen indifferenten Medium der Toxinwirkung auszusetzen; als dieses erwies sich abgestandenes Leitungswasser von Zimmertemperatur.

Der Grundversuch bestand also, wie gesagt, darin, das aktive Serum eines normalen mit dem aktiven Serum des mit Paramäcien vorbehandelten Kaninchens zu vergleichen und diejenige Verdünnung festzustellen, bei welcher einerseits durch das erstere keinerlei Störung mehr auftrat, anderseits zu sehen, ob dieselbe Verdünnung des spezifischen Serums noch eine Wirkung ausübte. Dies war der Fall bei 20facher Verdünnung beider Sera; hier trat die spezifische Wirkung deutlich und ausschliefslich zutage. In höheren Konzentrationen war allerdings auch ein durchgreifender Unterschied vorhanden, allein die spezifische Schädigung war kombiniert und dadurch verwischt mit der osmotischen, und deshalb wurde in den meisten der folgenden Versuche zum Studium der reinen, spezifischen Wirkung die 20- und die 40-fache Verdünnung des spezifischen Serums gebraucht. Die 40-fache deshalb, weil es sich herausstellte, dafs das ganz frische aktive Nor-

malserum hie und da noch die Beweglichkeit der Paramäcien in 20-facher Verdünnung stört; die Schädigung wird aber im Gegensatze zu der spezifischen sehr schnell überwunden.

Es besteht nämlich die spezifische toxische Wirkung in einer intensiven, langdauernden Lähmung der Paramäcien, und zwar beteiligen sich an der Lähmung zunächst nur die Wimpern der Oberfläche, bei höherem Grade auch die kontraktilen Vakuolen und schliefslich auch die undulierende Membran des Cytostoms, also die Organe der Fortbewegung, der Exkretion (Atmung?) und der Nahrungsaufnahme. Beschränkt sich die Lähmung auf die Cilien der Oberfläche, so erholen sich die Paramäcien nach 3—5 Tagen. Sie vermögen unter diesen Umständen im Zustande der völligen Fortbewegungs-Unfähigkeit Nahrung aufzunehmen und zu verdauen, ja sie sind sogar imstande Teilungen auszuführen und begonnene Teilungen zu vollenden.

Im einzelnen gestaltet sich der Vorgang der spezifischen Wirkung folgendermafsen: Bringt man Paramäcien in eine 20-fache Verdünnung von Antiparamäcienserum, so tritt zunächst ein bald nur Bruchteile einer Minute, bald mehrere Minuten währendes Stadium der Erregung ein, welche sich in lebhaft hin- und herschiefsenden Vorwärtsbewegungen äufsert. Diese werden aber bald nach einem Augenblick des Stillstandes durch kurze, sehr heftige, ruckweise Vorstöfse unterbrochen, denen zuerst schnell vorübergehende, dann immer länger dauernde rückwärts gerichtete Wirbelbewegungen folgen. Die normale Locomotion der Paramäcien beschreibt eine Schraube mit sehr lang gezogenen Windungen nach vorwärts, die pathologische Drehbewegung nach rückwärts besteht in der Ausführung einer Schraube mit mehr und mehr verschwindender Höhe der Schraubengänge, bis schliefslich eine Drehung am Platze eintritt, welche immer mehr sich verlangsamt. Man kann in diesem und in dem Stadium anscheinend vollkommener Lähmung, in die die Drehung ausläuft, durch kalorische und mechanische Reize die Paramäcien zu kurzen, sofort nachlassenden Vorwärtsbewegungen oder auch zu

Wirbeln veranlassen, wenn nicht unterdessen eine weitere Erscheinung eingetreten ist, die auch selbständig vor Eintritt der Lähmung Platz greifen kann; es ist eine Erscheinung, welche an die Agglutination der Bakterien erinnert und ihr vielleicht analog ist: die Verklebung der Paramäcien mit der Oberfläche anderer fester Körper in ihrer Umgebung, vielleicht durch ein Klebrigwerden ihrer Cilien. Merkwürdigerweise bleiben sie nun nie aneinander hängen, sondern haften immer nur am Glase, an Bakterienhaufen oder an Exemplaren jener kleinen Flagellatenart, die, bei der Immunisation mitverwendet, ebenfalls gelähmt wurde. Wurden andere, zur Immunisierung nicht verwendete Protozoen der Wirkung des Antiparamäcien-Serums gleichzeitig ausgesetzt, so wurden diese niemals in ihrer Bewegungsweise gestört, nicht gelähmt, und die Paramäcien blieben nicht an ihnen hängen. Dieser Versuch beweist also gleichzeitig die Spezifität des gewonnenen Serums. Ja, diese Spezifität des Serums ging soweit, dafs keine andere Paramäcienart, sondern nur Paramäcium candatum gelähmt wurde. Ob übrigens ein bestimmtes Paramäcium infolge von Lähmung oder von Agglutination still lag, war leicht zu entscheiden, denn die festgeklebten Paramäcien machen meist, jedenfalls immer auf Reize (Erschütterung) hin, gewaltige und manchmal erfolgreiche Anstrengungen, wieder loszukommen; bleiben sie haften, so sieht man deutlich, an welchen Punkten sie festkleben und in welchen Richtungen ihre Bewegungsmöglichkeit beschränkt ist; gelähmte Paramäcien lassen sich durch Bewegung der Uhrschale nach Willkür hin- und herschwenken; gelähmte und gleichzeitig angeklebte Tiere pendeln dabei um ihren Fixationspunkt. Es ist bekannt, dafs gesunde Paramäcien aufser zur Zeit der Konjugationsepidemien die gegenseitige Berührung vermeiden, jedenfalls wenn sie sich berühren, schnell entfliehen. Dies ist den vom spezifischen Serum beeinflufsten Tieren nicht möglich; geraten sie aneinander, so haben sie oft Schwierigkeiten, auseinanderzukommen; trotzdem sieht man niemals Paramäcien dauernd oder zu mehreren verklebt, auch dann nicht, wenn man Paramäcien allein in Wasser der Serumwirkung aussetzt. Selbst gelähmte Tiere sah ich niemals aneinander fest-

geheftet. Es ist deshalb vielleicht nicht richtig, den Ausdruck Agglutination für jene Zustände zu gebrauchen, da man darunter das Zusammenkleben gleichartiger Zellen untereinander durch spezifisches Serum zu verstehen gewohnt ist. Vorgänge, welche der Bakteriolyse analog zu setzen gewesen wären, traten nicht ein, auch nicht bei tagelanger Beobachtung, weder bei Zimmer- noch bei Brütofentemperatur von 37°. Selbst im schwach und gar nicht verdünnten Serum kamen keine eindeutigen Befunde zustande. Es wurde die Wirkung von 5- und 10facheu Verdünnungen von aktivem normalen und spezifischen Serum verglichen. Mit dem Serum I ergab sich ein ganz deutlicher Unterschied insofern, als die 10-fache Verdünnung des aktiven Normalserums die Paramäcieu nicht schädigte, während die gleiche Konzentration spezifischen Serums neben der Lähmung eine Verquellung der Tiere hervorrief, die bei einer Anzahl innerhalb 24 Stunden zu Zerfliefsungserscheinungen führte; im 10fach verdünuten Normalserum waren die Tiere nach 24 Stunden sämtlich munter, gefräfsig und ihre Zahl war vermehrt. Ein Vergleich der nur 5fachen Verdünnungen ergab für das Normalserum zunächst eine Lähmung ohne tiefgreifende sichtbare Gestaltveränderung, dagegen für das spezifische Serum Zerfliefsungserscheinungen fast aller Individuen; nach 24 Stunden waren die Paramäcien in der Lösung des Normalserums unbeweglich bis auf die undulierende Membrau gequollen, mit enormen aufgetriebenen Vakuolen, einige zerplatzt, einige von normalem Ansehen; in der Lösung des spezifischen Serums war die Mehrzahl zerplatzt, die übrigen unbeweglich mit enormen Vakuolen, aber mit strudelndem Peristomfeld, einige in verschiedenen Stadien der Teilung, die Teilungsprodukte hatten ein annähernd normales Aussehen. Es ergibt sich also im Grunde nur ein gradweiser Unterschied in der Wirkung des normalen und des spezifischen Serums: die Schädigung, die das spezifische Serum noch in grofsen Verdünnungen (s. unten) zu bewirken vermag, erzeugt in konzentrierteren Lösungen auch das Normalserum (aufser der Agglutination). Ob die beschriebenen Erscheinungen im konzentrierten Serum in Analogie zu lytischen Vorgängen zu setzen sind, bleibt übrigens fraglich.

Sicher ist, dafs die Zerfliefsungserscheinungen, welche etwas leichter in konzentrierteren Mischungen des spezifischen als des normalen Serums eintreten, in bezug auf ihr Aussehen gegenüber den durch mechanische und chemische Mittel leicht zu bewirkenden Zerfliefsungserscheinungen nicht die geringste Eigentümlichkeit hatten. Es blieb auch zunächst unerklärlich, warum fast nie in denjenigen Verdünnungen, wo die spezifische Wirkung allein sichtbar wurde, Zerfliefsungserscheinungen an den Paramäcien auftraten, es sei denn, dafs man diesen Umstand auf Rechnung des geringen lytischen Wertes des Serums zu setzen hat. Diese Verhältnisse sollen in den Schlufsbetrachtungen noch näher berührt werden. Es ist nötig, hier einen Punkt zu erwähnen, der bei den Versuchen mit Paramäcien immer wieder sich bemerkbar machte, das ist der grofse individuelle Unterschied im Verhalten von Paramäcien derselben Zucht den verschiedensten Eingriffen und Einflüssen gegenüber; er macht es zur unumgänglichen Notwendigkeit, stets mit einer beträchtlichen Anzahl von Individuen zu arbeiten, weil z. B. in einem Dutzend immer ein oder zwei Exemplare sich anders verhalten als die übrigen, welche den Durchschnitt repräsentieren. Da es sich aber immer nur um gradweise Unterschiede dabei handelt, d. h. um erhöhte oder herabgesetzte Empfindlichkeit gegenüber den experimentellen Reizen, so ist der individuelle Unterschied nicht nur nicht mifslich, sondern von Nutzen und in häufigen Fällen ein wertvoller Fingerzeig. Hierfür ein Beispiel: Mit der 20-fachen Verdünnung des Serums I trat bei der gröfsten Mehrzahl der behandelten Paramäcien nur eine einfache Lähmung der Fortbewegung ein; vereinzelte Exemplare blieben aber schwach beweglich, wieder andere hingegen erlitten eine tiefergreifende Lähmung, indem diese sich auf die kontraktilen Vakuolen verbreitete. Mit der Zeit nahm das aufbewahrte Serum an Wirksamkeit ab und nach Wochen war keine vollkommene Lähmung der Bewegung zu erzielen; der Durchschnitt der Paramäcien verhielt sich jetzt wie die mehr empfindlichen Exemplare vor mehreren Wochen. Mit dem frischen starken Serum II waren anderseits nun viel zahlreichere Lähmungen höheren Grades zu erzielen, als seinerzeit

mit dem Serum I, so dafs die damals als Zufälligkeiten erscheinenden Ausnahmen zu gesetzmäfsigen Erscheinungen gestempelt wurden.

Die feineren Vorgänge bis zum Eintritt tiefgreifender Lähmungen sind folgende: es findet zunächst immer zuerst der allmähliche Stillstand der Ortsveränderung auf die oben beschriebene Weise statt; liegen die Tiere still, so ist die weitere Beobachtung natürlich sehr erleichtert; man bemerkt dann auch an den inneren Teilen der Paramäcien zuerst eine Erregung: die Endoplasma-Strömung (»Cyclose«) ist eine sehr lebhafte, die undulierende Membran schlägt aufserordentlich schnell, die Nahrungsvakuolen füllen sich sehr schnell und stofsen sich oft ab, die kontraktilen Vakuolen bleiben zuerst klein und pulsieren mit grofser Frequenz, durchschnittlich 4 mal in 1 Minute (normale Frequenz der Entleerung der kontraktilen Vakuolen ist alle 25 Sekunden bei 16° C). Der Vorgang der Paralysierung kann auf jeder beschriebenen Stufe stehen bleiben; geht er nicht weiter, als bisher beschrieben, so ist es nicht zu verwundern, dafs diejenigen Tiere, deren Stoffwechsel so offenbar gesteigert ist, sich besonders schnell auch von der Lähmung ihrer Fortbewegungsorgane erholen; geht er hingegen weiter, so folgt der Erregung eine Verlangsamung der inneren Bewegungsvorgänge; am auffallendsten ist das seltenere Schlagen und die gleichzeitige diastolische Erweiterung der kontraktilen Vakuolen, welche so enorme Grade erreichen kann, dafs das ganze Tier mifsgestaltet erscheint, indem es in eine von wenig Plasma umgebene Blase verwandelt wird. Dies geschieht dadurch, dafs schliefslich überhaupt keine Entleerung der Vakuolen mehr erfolgt und die normaliter vorhandenen zwei Vakuolen in eine einzige verschmelzen. Sehr häufig ist auch der Fall, dafs sich die sogenannten Bildungsvakuolen nicht mehr in die Haupt-Vakuolen zu entleeren vermögen, so dafs diese letzteren von einem Kranz scheinbar neugebildeter Hohlräume umgeben werden. Bemerkenswert ist, dafs in diesem Stadium noch die Nahrungsaufnahme ungehindert vor sich gehen kann, und dafs die Paramäcien in diesem aufgeblasenen Zustande tagelang leben können. Erst die höchsten Grade der Lähmung ergreifen die undulierende Membran und bedingen den Tod.

Die Hoffnung, eine anatomische Grundlage für die beschriebenen Vorgänge zu finden und sie dadurch des rein funktionellen Charakters zu entkleiden, hat sich nicht erfüllt. Es gelang auch mit den stärksten Vergrößerungen nicht, Veränderungen der Cilien und ihrer Ansatzpunkte zu finden. Zuweilen schienen sie verdickt und verkürzt und an ihren äußersten Enden mit Anschwellungen versehen. Aber die Täuschung ist dadurch, daß Bakterien und feinste Bröckel unter dem Einflusse des Serums an ihnen haften bleiben und mit verdickten Enden verwechselt werden können, sehr leicht möglich. Ferner erscheinen die Cilien-Enden, wenn sie von oben gesehen werden, infolge starker Lichtbrechung als Knöpfchen; da nun die Cilien gelähmter Paramäcien wirr durcheinander liegen, so können solche Knöpfchen bei der ungemeinen Feinheit des Objekts leicht eine pathologische Anschwellung benachbarter Cilien vortäuschen. Im ganzen hat man den Eindruck einer falschen Innervation, indem die Cilien an den verschiedenen Stellen der Oberfläche in Gruppen bald schnell, bald langsam, und oft in entgegengesetzten Richtungen schlagen. Die Trichiten werden von den festklebenden Tieren ausgeschleudert, aber sehr häufig nur mangelhaft, so daß sie von von einem Walde starrer Spieße umgeben erscheinen; auch bleiben sie oft an ausgestoßenen Trichiten mit den Cilien kleben.

Auch die andere Hoffnung, es würden sich vielleicht bei Behandlung von Paramäcien mit spezifischem Antiserum Wirkungen ergeben, welche ausschließlich nur durch solches zu erzeugen wären, ist nicht in Erfüllung gegangen. Alle genannten pathologischen Äußerungen des Paramäcien-Organismus lassen sich auch durch chemische Mittel hervorrufen. Es liegen eben dieselben Verhältnisse vor, wie bei der Hämolyse, welche ebensogut durch chemische und thermische Mittel als durch spezifische Antikörper bewerkstelligt werden kann.

Von der Annahme ausgehend, daß in den Eigenschaften des Plasmas gesunder einerseits und durch spezifisches Serum gelähmter Paramäcien anderseits Unterschiede bestehen müssen, unternahm ich färberische und andere Versuche, aber ohne bisher ein verschiedenes Verhalten beider zu entdecken. Gerade

beim Vergleich der Zerfliefsungserscheinungen gesunder und spezifisch gelähmter Infusorien hätte man am ehesten erwarten können, Unterschiede zu finden, weil einerseits die Vorgänge der »Zerfliefsung« normaler Infusorien durch die treffliche Arbeit Kölschs (4) wohlbekannt sind und anderseits das Protoplasma hierbei in feineren Beziehungen beobachtet werden kann, als bei irgend einem anderen Vorgang. Bisher haben aber meine Versuche in dieser Richtung keinen Erfolg gehabt: die durch Erwärmung oder durch sanften Druck bewirkte Zerfliefsung spezifisch gelähmter Paramäcien glich vollkommen derjenigen unter gleichen Bedingungen erfolgenden normaler Kontrolltiere. Doch sollen diese Versuche gerade mit Rücksicht auf die osmotische Natur der dabei sich abspielenden Veränderungen gelegentlich wiederholt werden.

Ferner seien die Ergebnisse von Vitalfärbungen spezifisch gelähmter Paramäcien mitgeteilt. Dieselben wurden zu dem gleichen Zwecke unternommen wie die Zerfliefsungs-Versuche, nämlich um etwaige Unterschiede im Verhalten von spezifisch beeinflufsten und normalen Paramäcien gegenüber dem Neutralrot festzustellen. Zu gleichen Mengen Zuchtflüssigkeit mit gelähmten Paramäcien einerseits und gesunden anderseits wurden gleiche Mengen (gewöhnlich 3 Tropfen) verschiedener Verdünnungen einer konzentrierten, wäfsrigen Neutralrotlösung (100-, 5000- und 10000-fache-Verdünnungen) auf Objektträger gegeben, gemischt und ein mit tWachsfüfschen versehenes Deckglas aufgesetzt. Normale Paramäcien wurden durch diesen Zusatz von 100-fach verdünntem Neutralrot in wenigen Stunden, meist unter Zuspitzung des Vorderendes abgetötet, nachdem sie eine anfänglich distinkte, an bestimmte Granula gebundene, dann mehr und mehr diffuse Färbung angenommen hatten. Zuerst stirbt das Vorderende ab. Das absterbende Plasma nimmt im Gegensatz zu dem hochbordeauxrot sich färbenden lebenden mehr und mehr eine ziegelrote bis braunrote Farbe an; schliefslich schwindet überhaupt jede Färbung. Gleichzeitig gehen Zerfliefsungs- und Gerinnungserscheinungen an den Körpern der Paramäcien vor sich. Der Zusatz einer 5000-fachen Verdünnung der Neutralrotlösung bewirkt eben-

falls zunächst eine isolierte Färbung der Nahrungsvakuolen-Wände und gewisser Granula am hinteren Körperpol. Je mehr mit dem Fortgang der Verdauung die Nahrungsvakuolen kleiner werden, desto intensiver färbt sich der Inhalt. Allmählich verbreitet sich die Granulafärbung nach vorn und meist tritt auch eine Färbung der warzenförmigen Vorsprünge der Pellicula zwischen den Cilienansätzen, wahrscheinlich durch eine rein mechanisch durch die Wimperbewegung bedingte Ansammlung des Farbstoffs ein. Nach 6 Stunden liegen die Paramäcien bei Anwendung der 5000-fachen Verdünnung still, nach 24 Stunden sind sie sämtlich darin abgestorben. Der Zusatz von 10000-fach verdünnter Neutralrotlösung hatte eine noch gröfsere Verlangsamung der Vitalfärbung zur Folge, so dafs noch nach 24 Stunden einzelne distinkt gefärbte Individuen am Leben waren. Diese selben Färbungen, in derselben Konzentration und gleichzeitig angewandt, hatten nun bei spezifisch gelähmten Paramäcien nicht denselben Erfolg. Je intensiver nämlich die Tiere gelähmt waren, desto geringer war die eintretende Färbung, desto langsamer trat sie ein, wenn sie überhaupt statt hatte. Der Zusatz von 100-facher Verdünnung des Neutralrots, welcher gesunde Paramäcien in kurzer Zeit tötet, hatte bei gelähmten nach 4 Stunden lediglich den ersten Grad der Farbstoffwirkung erzeugt, nämlich die distinkte Färbung der Vakuolen-Wände und der umliegenden Granula des Hinterendes. Noch nach 24 Stunden befanden sich die gelähmten Paramäcien am Leben, jetzt allerdings diffus gefärbt und gequollen. Die 10000-fache Verdünnung hatte bei gut gelähmten in dieser Zeit noch keine Färbung zu erzielen vermocht. Als der gleiche Versuch mit solchen Paramäcien angestellt wurde, welche z. T. bereits die Lähmung fast überstanden hatten, ergab sich eine geringere Verzögerung der Färbung gegenüber den gelähmten Paramäcien; die Erscheinung war ganz konstant: je mehr ein Tier die Vergiftung überwunden und je mehr es beweglich geworden war, desto mehr glich es in bezug auf seine Färbbarkeit mit Neutralrot den gesunden Paramäcien. Ob die besonders dunkelrote Färbung, welche einige Male bei immun gewordenen Paramäcien auffiel, auf einer Gesetzmäfsigkeit beruht, mufs noch dahingestellt

bleiben und soll bei Gelegenheit weiter untersucht werden. Wie die obigen Befunde von der geringen Farbstoffaufnahme durch spezifisch gelähmte Paramäcien zu deuten sind, ist nicht klar. Jedenfalls ist sie, wie aus einem Kontrollversuche hervorgeht, nicht allein auf Rechnung der lähmenden Substanz im spezifischen Serum zu setzen: Denn auch inaktives Normal-Serum vom Kaninchen, welches in den angewandten Konzentrationen absolut keine sichtbare Wirkung auf die Paramäcien auszuüben scheint, verzögerte die Vitalfärbung erheblich, wenn auch nicht in dem Mafse wie das spezifisch-toxische Serum.

Zum Schlusse sei noch bemerkt, dafs das Antiparamäcien-Serum ebenso im Dunklen als im Hellen auf die empfindlichen Tiere lähmend einwirkt.

---

Die lähmende Wirkung des Antiparamäcien-Serums läfst sich mit blofsem Auge verfolgen, wie sich gleich bei einem der ersten Versuche ergab, der den Zweck hatte, die Wirkungen von aktivem spezifischem, inaktivem spezifischem, aktivem normalem und inaktivem normalem Kaninchenserum auf die Paramäciken in 20facher Verdünnung zu vergleichen. Die Proben wurden in Reagenzgläsern angesetzt, und es liefs sich mit unbewaffnetem Auge verfolgen, wie in dem aktiven spezifischen Serum und in dem auf 53° ½ Stunde lang erhitzten spezifischen Serum die Flüssigkeit mehr und mehr entvölkert wurde und sich klärte, indem die darin befindlichen Paramäcien gelähmt zu Boden sanken und gleichzeitig auch die Bakterien zu grofsen Haufen agglutiniert wurden, die sich ebenfalls in der untersten Schichte ansammelten. Im aktiven Normalserum sanken anfänglich ebenfalls die meisten Paramäcien zu Boden, erholten sich aber schnell und kamen wieder empor. Die Probe mit inaktivem Normalserum dagegen blieb in allen Schichten gleichmäfsig bevölkert. Die mikroskopische Kontrolle zeigte, dafs im inaktiven Normalserum die Paramäcien nach schnell vorübergehenden Wirbelbewegungen, welche wohl durch die veränderten osmotischen Verhältnisse bedingt sind, sich vollkommen unbeeinflufst zeigen.

Aus dem Gesagten geht hervor, dafs die halbstündige Erwärmuug auf 53° diesem Serum die Fähigkeit, zu lähmen, nicht geraubt hatte. Auch die einstündige Erhitzung auf 53° vermochte dies nicht, wohl aber genügte eine darauffolgende Erhitzung auf 55—56° (vergl. die einschlägigen Angaben bei Serum III). Merkwürdigerweise liefs sich aber das einmal inaktivierte Serum durch Zusatz von aktivem Normalserum nicht wieder aktivieren. Ebenso war die Wirksamkeit durch Alexinzusatz nicht wieder herzustellen, wenn das spezifische Serum sie nach Monaten spontau eingebüfst hatte.

Die Intensität der Wirkung in bezug auf die Zahl der gelähmten Paramäcien und in bezug auf den Grad der Lähmung bei den einzelnen war der Menge des jeweils verwendeten Serums proportional, ebenso die Zeit, in welcher die Lähmung eintrat. Durch ganz schwaches Serum wurden nur die empfindlicheren Individuen beeinflufst. Je intensiver die Lähmung war, desto länger hielt sie an, aber noch 5 Tage lang gelähmte Paramäcien waren am Leben und konnten sich erholen. Sie erholten sich rascher, wenn sie nach Eintritt der Lähmung von dem umgebenden Serum befreit, d. h. in Wasser gebracht wurden. Doch hielt auch hier die Wirkung tagelang an, was wohl dafür spricht, dafs eine Regeneration wirklich geschädigter Teile erst notwendig war. Bei der Temperatur von 37° trat die lähmende Wirkung rascher als bei Zimmertemperatur ein, anfänglich konkurriert hier aber die erregende Wirkung der Wärme mit der Wirkung des Serums in der Weise, dafs das Exzitationsstadium länger andauert als bei den Kontrolltieren (Serumwirkung bei 16° C), aber dann wird die Lähmung um so schneller vollkommen.

Die Paramäcien verhielten sich dem spezifischen Serum gegenüber negativ chemotaktisch; diese Tatsache wurde in der Weise festgestellt, dafs der unter einem gestützten Deckgläschen befindliche Raum zur einen Hälfte mit bestimmten Verdünnungen des spezifischen Serums, zur anderen Hälfte mit Paramäcienzucht gefüllt wurde. Die Flucht der Tiere an den dem spezifischen Serum entferntesten Teil des zur Verfügung stehenden Raumes bewies die negative Chemotaxis. Im Gegensatz dazu trat bei

Auffüllung der einen Hälfte mit indifferenten Medien sehr bald gleichmäfsige Verteilung der Paramäcien in den beiden Deckglashälften ein.

Ein Verbrauch wirksamer Substanz war bei den doch verhältnismäfsig geringen Mengen Paramäcien, die in Berührung mit dem Serum kamen, nicht festzustellen. Wenigstens wirkte der Abgufs nach gelungenem Lähmungsversuch anscheinend ungeschwächt auf mehrere frische Portionen Paramäcien. In starken Verdünnungen wirkten die Sera erst nach Stunden und Tagen.

So trat eine Erlahmung in dem 100fach verdünnten Serum Nr. II erst nach Stunden ein, und nach 4 Tagen fanden sich sogar im 400fach verdünnten Serum die meisten Paramäcien vollkommen gelähmt und an ihre Nachbarschaft festgeklebt. Die gleichzeitig angesetzten Proben mit schwächeren Verdünnungen (50—200fach) beherbergten fast nur zerflossene und geronnene Paramäcien nach dieser Zeit; doch ist die Deutung dieses Befundes im Sinne eines mittlerweile schon eingetretenen lytischen Prozesses nicht einwandfrei, da ja die aseptische Vornahme dieser Versuche nicht möglich ist und durch Zusammenbringen der Paramäcienzucht mit den verschiedenen Serummischungen reichliche Fäulnis der letzteren eintritt, so dafs das Absterben der Paramäcien auf diese bezogen werden kann. Noch gröfsere Wahrscheinlichkeit aber hat die Annahme, dafs es durch die auf die Organe der Ernährung übergreifende Lähmung bedingt ist.

### Antiglaukoma-Serum.

Ein 335 g schweres Meerschweinchen erhielt im Zeitraum von zwei Monaten acht subkutane Injektionen zentrifugierter Reinzuchten des Glaukoma scintillans Ehhg.; es befand sich in den Reinzuchten nur eine einzige Bakterienart. Das Tier vertrug die Injektionen ohne Abszefsbildung und behielt sein ursprüngliches Körpergewicht.

Die Schilderung der Wirkung dieses Serums kann kurz gefafst werden, da sich den Antiparamäcien-Seris vollkommen analoge Beobachtungen ergaben. In höheren Konzentrationen war

zwischen der Wirkung normalen Meerschweinchen-Serums und der des spezifischen Serums kein deutlicher Unterschied zu erkennen. Erst die 20fache Verdünnung des Normalserums erwies sich unschädlich für Glaukoma und damit begann der Bereich der spezifischen tonischen Wirkung beim Serum des behandelten Tieres. Die höheren Verdünnungen des spezifischen Serums verhielten sich wie folgt:

20-fache Verdünnung: sofort eintretende Bewegungsstörungen, Rückwärtsrollen, nach 8 Minuten nur noch schwache Beweglichkeit, nach 14 Minuten Verklebung mit Bakterien und vollständiger Stillstand, nach 25 Minuten einseitige (»Thränenform«) oder allgemeine Abrundung der Gestalt Nach 24 Stunden einzelne zu Kugeln mit deutlich hervortretendem Kern geronnen; die übrigen liegen in vollkommener Lähmung still.

40-fache Verdünnung: sofortige Bewegungsstörung, nach 8 Minuten nur noch schwache Ortsveränderung, nach 15 Minuten fast völliger, nach 45 Minuten vollständiger Stillstand bei normaler Form Nach 24 Stunden merkwürdige Größenunterschiede (allgemeine Quellung oder abnormes Wachstum ?). Vereinzelte schwache Bewegungen.

80-fache Verdünnung: Fast sofort bewirkte Drehbewegung; nach 10 Minuten meist Stillstand; wenn wieder eintretende Bewegung, dann immer Rückwärtsrotation, nach 45 Minuten Stillstand; die meisten erhalten »Thränenform« (ein Körperpol zugespitzt, der andere abgerundet). Nach 24 Stunden wieder eingetretene Beweglichkeit; die meisten aber bleiben schwach am Boden der Gefäße; Größenunterschiede!

160-fache Verdünnung: Nach 3 Minuten die erste rollende Bewegung; nach 5 Minuten schwache, ruckweise Bewegungen fest am Platze; innerhalb 30 Minuten sinken sämtliche Tiere zu Boden, ohne die Fähigkeit der Fortbewegung ganz zu verlieren. Nach 24 Stunden normale Beweglichkeit wieder hergestellt; keine bedeutenden Größenunterschiede zwischen den einzelnen Tieren.

320 fache Verdünnung: Innerhalb 15 Minuten keine Bewegungsstörung, nur allmähliches Absinken zu Boden, Ausführung nur kleiner Bewegungen. Nach 24 Stunden Tiere vollkommen unbeeinflußt.

Durch halbstündiges Erhitzen auf 56° verlor das Serum die Fähigkeit, Glaukoma zu lähmen, nicht aber die Fähigkeit der »Agglutination:« Die Glaukoma blieben allerorts mit ihren Cilien kleben. Die sonstigen feineren Veränderungen der Tiere durch das aktive Serum (Cilienstillstand, lebhafte Körnchenströmung) glichen vollkommen den Beobachtungen bei den Paramäcien.

Das Meerschweinchen ging bei einem Versuche, die Veränderungeu und Schicksale der Glaukoma in der Bauchhöhle des immunisierten Tieres zu studieren, zugrunde.

## Antiparamäcien-Serum Nr. III.

Von den bisherigen Erfahrungen in dieser Untersuchungsreihe schien das Fehlen von eigentlichen lytischen Stoffen in den spezifischen Seris die auffallendste. Es war nicht unmöglich, diese Tatsache der im allgemeinen weniger wirksamen subkutanen Injektion zur Last zu legen. Allein es war ja wegen der Natur des Injektionsmaterials nicht angängig, die intraperitoneale Einspritzung zu versuchen. Deshalb war es sehr willkommen, in dem kürzlich von Löffler (8) mitgeteilten »neuen Verfahren zur Gewinnung von Antikörpern« eine Methode kennen zu lernen, welche die Einbringung der Paramäcien samt den ihnen anhaftenden Bakterien in die Bauchhöhle ermöglichte. Sie besteht in der Erhitzung des sorgfältig getrockneten Antigens. Für die Paramäcieu gestaltete sich die Gewinnung eines wirksamen uud bei intraperitonealer Injektion ungefährlichen Materials in folgender Weise: Möglichst dichte Reinzuchten wurden vollkommen abzentrifugiert, der Brei von Paramäcien in sterilen Petrischalen ausgestrichen und dann im Vakuum oder über Schwefelsäure sorgfältig getrocknet. Man erhielt dann an den dickeren Stellen fettig glänzeude graugelbe Schüppchen, bei guter Verteilung in den Schalen nach Ablösung mit einem Messer ein lockeres feines Pulver. Nun wurde im Trockenschranke $^1/_2$ Stunde erhitzt; nach dem Abkühlen wurde das so sterilisierte Material mit NaCl-Lösung versetzt, wobei es sich schlecht benetzte, und dann einem Kaninchen intraperitoneal eingespritzt. Das Tier erhielt innerhalb drei Wochen acht derartige Injektionen, wobei sein Gewicht von 3090 g auf 2570 abnahm. Die jedesmalige Dosis an Paramäcientrockensubstanz wurde genau gewogen, zwecks Orientierung über die aus guten Paramäcien-Zuchten gewinnbaren und der zur Immunisierung erforderlichen Mengen. Im ganzen erhielt das Tier 150 mg Paramäcien-(+ Bakterieu)-Trockensubstanz. In 1 Liter

dichter Paramäcienzucht sind höchstens 30 mg Trockensubstanz an Paramäcien und Bakterien). 6 Tage nach der letzten Injektion wurde dem Tiere Blut entzogen. Das Serum erwies sich als wirksam, obwohl anscheinend nicht in dem Grade als die vorigen Sera (trotz Verwendung gröfseren Impfmaterials). Seine physiologischen Wirkungen waren die gleichen wie die der anderen Sera. Dagegen unterschied es sich in einer höchst merkwürdigen Weise von jenen dadurch, dafs es sich nicht inaktivieren liefs: bei halbstündiger Erhitzung auf 70° wurde es, wie jedes andere Serum trüb opaleszierend, büfste aber seine lähmende Wirkung nicht ein. Bei weiterer Erhitzung, gegen 80°, gerann es allmählich.

Auch diesmal wurde die Wirkung des unverdünnten spezifischen Serums verglichen mit der des unverdünnten Normalserums: die Paramäcien starben in beiden innerhalb derselben Zeit, nämlich in 1½—3 Minuten, indem Kern und Plasma gerannen. Der einzige Unterschied, der bemerkt wurde, bestand darin, dafs im spezifischen Serum nach eingetretenem Tode an vielen Individuen nach eine Abhebung der Pellicula von dem Endosarke zu beiden Seiten des Tieres durch eine erst postmortal eintretende Flüssigkeitsansammlung eintrat.

Die Wirkung des verdünnten spezifischen Serums (gewöhnlich wurde die 40fache Verdünnung verwendet) hielt meist bei ausschliefslicher Lähmung der Fortbewegungsorgane, mehrere Tage an; vom dritten Tage an mehrten sich die wieder beweglich gewordenen Tiere und von Tag zu Tag konnte man verfolgen, wie die Zahl der gelähmten sank und diejenige der in den oberen Schichten der Flüssigkeit frei herumschwimmenden zunahm. Dies konnte nicht anders erklärt werden als dadurch, dafs vermöge des während der äufseren Lähmung unbehindert vor sich gehenden Stoffwechsels die Vergiftung überstanden wird und die geschädigten Teile regeneriert werden. Damit erhob sich die Frage, ob durch ein derartiges Überstehen der Vergiftung gegenüber einer wiederholten Vergiftung ein veränderter Zustand geschaffen wird, also vielleicht Überempfindlichkeit oder Immunität eintritt. Schon der erste Versuch bewies eine ganz auffallende Herab-

setzung der Empfindlichkeit gegenüber dem spezifischen Serum: eine Reihe Paramäcien, welche vor 3 Tagen gelähmt worden waren, und von denen sich die Hälfte erholt hatte, während die andere Hälfte sich noch in gelähmtem Zustande befand, wurden mit Wasser vorsichtig von Resten des alten Serums gewaschen und nach dem Zentrifugieren in eine frische Uhrschale gesetzt, in der die gelähmten sofort zu Boden sanken unter bald aufhörenden, ruckweiseu Versuchen zur Fortbewegung, während die gesundeten Tiere iu deu oberen Schichten herumschossen. Zur Kontrolle wurden normale Paramäcien auf ganz die gleiche Weise behandelt und in eine zweite Uhrschale gebracht. Beide Proben wurden nun mit der gleichen Menge spezifischen Serums versetzt, sodafs eine 40 fache Verdünnung derselben entstand, durch vorsichtige Mischung mittels steriler Pipetten. Während die normalen Paramäcien binnen wenigen Minuten der lähmenden Wirkung unterlagen, blieben diejenigen Paramäcien, die sich von der ersten Vergiftung vollkommen erholt hatten, ganz munter, und erst ungefähr nach 1 Stunde sanken einige wenige davou nach abwärts, ohne die wilden Bewegungsstörungen zu zeigen, mit denen bei normalen Tieren sonst die Serumwirkung eingeleitet wird. Was die Paramäcien dieser Probe betrifft, welche sich noch in gelähmtem Zustande befanden, so schien die zweite Dosis des spezifischen Toxins die Vergiftung eher zu verstärken, indem bei einigen die tiefer greifende Lähmung der Vakuolen und des Peristomfeldes eintrat Der eben beschriebene Versuch wurde in verschiedener Weise, aber imiuer mit demselben Resultate wiederholt; u. a. wurde gezeigt, dafs Paramäcien, welche eiue zweimalige Vergiftung überstanden hatten, auch gegen eine erhöhte Giftkonzentration nur 20fache Verdünnung nach zweimaliger Behandlung mit 40fachen Verdünnungen) ohne Ausnahmen ganz unempfindlich gewordeu waren.

## Zusammenfassung.

Die vorliegendeu Untersuchungen waren zum Zwecke morphologischer Studien unternommen worden. Wenn sie nun auch bisher gerade nach dieser Richtung keine Resultate gehabt haben,

so bieten ihre Ergebnisse doch vielleicht in bezug auf theoretische Fragen der Immunitätslehre und in bezug auf die Klinik der durch Protozoen verursachten Infektionskrankheiten einige interessante Hinweise. Systematische Versuche über Immunisierung gegen Protozoen liegen bisher nicht vor. Die einzigen Angaben, welche über die Einwirkung eines spezifischen Serums auf Protozoen existieren, stammen von Laverau und Mesnil (7) und sind verzeichnet in ihren Untersuchungen über die Trypanosomiasis der Ratten. Auch die klinische Seite der Frage war vollkommen unbearbeitet und unsicher bis in die jüngste Zeit; wufste man ja nicht einmal für die seit altersher bekannte Malaria gewifs, ob ihre Überstehung eine Immunität verschaffte, wie viel weniger für diejenigen menschlichen und tierischen Seuchen, welche noch nicht lange bekannt sind und deren Natur noch später als die der Malaria erkannt worden ist. Bevor R. Koch (3) im Jahre 1900 an einem einwandsfreien Krankenmaterial feststellte, dafs es eine erworbene Immunität nach Malariaerkrankung gibt, war gerade die entgegengesetzte Meinung die herrschende, dafs nämlich das Überstehen der Malaria gegenüber einer Reinfektion empfänglicher mache. Koch hat dann auch in Übereinstimmung mit Smith und Kilborne die Mitteilung gemacht, dafs beim Texasfieber eine Immunität erworben wird (zit. nach Kossel (5). Es besteht zwischen dieser Protozoen-Infektion und der Malaria darin noch eine besondere Ähnlichkeit, dafs gerade die Durchseuchung in früher Jugend einen wirksameren Schutz als das Überstehen in späterem Lebensalter verleiht. Seitdem mehren sich die Angaben über die Möglichkeit der Erwerbung aktiver Immunität bei Protozoen-Infektionskrankheiten. Inwieweit diese Frage durch obige Untersuchungen über Immunisierung gegen Infusorien und Flagellaten berührt wird, darauf soll weiter unten eingegangen werden.

Schon 1899 haben L. Rabinowitsch und Kempner (14) gelungene Übertragungsversuche von Trypanosomen grauer Ratten auf weifse Ratten ausgeführt und mitgeteilt, dafs die weifsen und gescheckten Ratten, welche sich niemals spontan mit Trypanosoma Lewisi infizieren, durch die einmalige Impfung eine aktive

Immunität erwerben, ferner dafs das Serum solcher weifsen Ratten anderen bei der Infektion Schutz verleiht (passive Immunität) Doch konnten Rabinowitsch und Kempner keine für die Parasiten schädlichen Wirkungen des Immun-Serums erkennen: Weder Agglutination noch Entwicklungshemmung. Demgegenüber stellten Laveran und Mesnil (l. c.) fest, dafs das Serum von Ratten, welche eine oder mehrere Injektionen von Trypanosomen erhalten hatten, eine »Agglomeration« der Flagellaten erzeugte. Gewöhnlich trat vor der Häufchenbildung keine Immobilisation ein. Eine lähmende Wirkung gewann das Serum überhaupt nur bei langedauernder und forcierter Immunisierung mit Trypanosoma; auch dann erschien der paralysierende Erfolg nur bei Anwendung stärkerer Konzentrationen (z. B.: eine Ratte hatte in sieben Monaten 13 Impfungen erhalten; ihr Serum lähmte nur noch in 10facher Verdünnung). Die agglutinierten Trypanosomen sind in den Seris von gewöhnlicher Stärke ebenso beweglich wie die isolierten gesunden. Indem sie mit dem geifsellosen Hinterende verkleben, bilden sie, oft in Dutzenden, Rosetten, an deren Peripherie die Geifseln lebhaft schlagen. Nie sahen sie die geringste morphologische Veränderung an den agglomerierten Trypanosomen. Diese blieben trotz Agglutination am Leben und infektiös. Nie vermochten sie eine Auflösung der Flagellaten durch das Serum zu konstatieren.

Vergleicht man mit diesen Angaben die obige Schilderung der Wirkung meiner Anti-Infusorien- und Anti-Flagellaten-Sera, so ergibt sich eine Übereinstimmung in der Art ihrer Wirkungen und Unterschiede nur in den Graden der verschiedenen Wirkungsweisen. Während bei meinen Seris sowohl für die Infusorien (Paramäcium caudatum und Glaukoma scintillans) wie für das kleine Flagellat, Chilodon paramäcium, die lähmende Wirkung weit überwog, trat in jenem Anti-Trypanosomen-Serum die agglutinierende Wirkung in den Vordergrund. Auch war die Stärke der Sera erheblich verschieden: diejenigen von Laveran und Mesnil agglutinierten höchstens noch in 50facher Verdünnung (lähmten höchstens noch in 10facher Verdünnung); ich beobachtete lähmende Wirkung noch in 400facher

Verdünnung. Gemeinsam ist die Feststellung, dafs es unmöglich ist, morphologische Veränderungen an den beeinflufsten Protozoen ausfindig zu machen, dafs niemals Auflösungserscheinungen zu sehen sind (welche an die Bilduug lytischer Antikörper denken liefsen), und dafs die tatsächlich gewonnenen Antikörper paralysierender und agglutinierender Natur die Protozoen gar nicht oder kaum schädigen. Dies ist ein neuer Beweis für die wichtige Tatsache, dafs wir nicht berechtigt sind, diese Antikörper als Schutzstoffe zum Zwecke der Überwindung der parasitären Protozoen anzusehen; es verbietet sich also die teleologische Auffassung der Antikörperproduktion, wenigstens soweit es sich um die paralysierenden und agglutinierenden Stoffe haudelt; wenn, wie Laveran und Mesnil gesehen haben, die Trypanosomen in der Bauchhöhle des immunen Tieres lange am Leben bleiben, so weist dies darauf hin, dafs ihre endgültige Beseitigung auf anderem Wege zustande kommen mufs als durch die schädigende Wirkung der Körpersäfte. Tatsächlich haben die französischen Autoren beobachtet, dafs die Vernichtung der Parasiten allein durch Phagocytose bewerkstelligt wird.

Es ist fraglich, ob bei der natürlichen Erwerbung einer aktiven Immunität gegen Protozoen je so stark wirksame Sera zustande kommen, als ich sie durch künstliche Immunisierung erhielt. Wäre dies der Fall, so wäre ja allerdings, wie wir gesehen haben, die Möglichkeit gegeben, dafs die Parasiten infolge tiefergreifender Lähmung (Lähmung der exkretorischen und metritorischen Apparate) durch die spezifische Säftewirkung absterben. Aber es mufs auch daran erinnert werden, dafs die bisher bekannten parasitischen Protozoen fast ohne Ausnahme sich auf andere Weise ernähren als diejenigen, die ich als Autigene benutzt habe, so dafs ein Analogie-Schlufs von Paramäcien auf parasitische Protozoen nicht ohne weiteres zulässig ist.

Auf die Besonderheit der »Agglutination« durch die Antiparamäcien- und Antiglaukoma-Sera mufs noch mit einigen Worten eingegangen werden. Am auffallendsten war, dafs niemals die spezifischen Zellen miteinander verklebten, sondern immer uur mit den Gefäfs-Wänden oder mit deu anderen zur Immunisation

verwendeten Zellen (Bakterien, Chilodon, Paramäcium). Befanden sich Lebewesen in der Zucht, die nicht als Antigen gedient hatten, so blieben die Paramäcien oder das Chilodon niemals an ihnen haften. Dies erinnert an Beobachtungen von Bordet und von Kraus (zit. nach Paltauf [13]), wonach bei Gemengen von zweierlei Blutkörperchenarten Zusatz von für die eine Art spezifischem Serum nur eben diese miteinander verkleben liefs. Die spezifisch beeinflufsten Blutkörperchen blieben niemals an den normalen hängen.

Obwohl die Paramäcien meist mit einem ihrer Körperpole haften blieben, so war doch keine ausschliefsliche Beteiligung bestimmter Körperstellen bei der Agglutination zu beobachten wie etwa bei den Trypanosomen. Die makroskopische Beobachtung der Serumwirkung gegenüber den Paramäcien erinnerte sehr an den englischen Ausdruck für Agglutination: sedimentation, weil im Vordergrunde der sich im spezifischen Serum abspielenden Vorgänge die Lähmung und hierdurch bedingte Absinken der Protozoen stand. Schon den ersten Beobachtern der Agglutination fiel der Verlust der Eigenbewegung als stetes Begleitsymptom der Häufchenbildung auf (Gruber und Durham, Bordet, Metschnikoff).

Das Fehlen von lytischen Stoffen in cytotoxischen Seris und das Vortreten von paralysierenden Eigenschaften scheint sehr oft Hand in Hand zu gehen; wenigstens ist dies für die Spermotoxine durch Landsheimer [6], Metschnikoff [11] und Moxter [12], für Antisera gegen Flimmerepithelien durch v. Dungern [1] bekannt. Es trifft also nach den bisherigen Erfahrungen auch für die Antisera gegen Protozoen zu. Es wäre von Interesse zu sehen, ob man durch Immunisierung gegen Amöben, welche keine speziellen Bewegungsorgane besitzen, weniger lähmende und dafür lytische Antikörper erhält. Was die Leukozyten betrifft, so habe ich keine Angaben darüber finden können, ob durch ein Leukozytotoxin (Metschnikoff l. c., Funck, [2]) die Bewegungsfähigkeit der weifsen Blutzellen aufgehoben wird.[1]) Es

1) Nach einer Mitteilung von Prof. Gruber ist dies der Fall.

sind nur Aufhellungen und Kernveränderungen beschrieben. Es ist auffallend, dafs gerade die mit kräftigen Bewegungen begabten Zellen, zur Immunisierung verwendet, die Bildung vorwiegend paralysierender Antikörper auslösen. Eine Erklärung läfst sich dafür nicht geben. (Doch mag daran erinnert werden, dafs wenigstens die freilebigen unter ihnen entsprechend der Fähigkeit der schnellen Fortbewegung und der hohen Ausbildung der Bewegungsorgane eine andere Ernährungsweise besitzen als z. B. die Bakterien, von welchen man Lysine erhält. Vielleicht sind es die eigenartigen Enzyme der Verdauung, welche als Antigene in besonderer Weise wirken. Für die Paramäcien ist ein diastatisches Ferment von Mesnil und Mouton (9) nachgewiesen worden).

Negativ wie die Versuche, morphologische Eigentümlichkeiten an den spezifisch beeinflufsten Zellen zu entdecken, fielen die Experimente aus, welche den Zweck hatten, zu prüfen, ob geringe Dosen des paralysierenden Serums etwa lediglich eine stimulierende Wirkung besäfsen. Dies war nicht der Fall. Das gleiche negative Resultat verzeichnet übrigens Metschnikoff (l. c.) für die gleichen Versuche mit geringen Dosen von spermotoxischem Serum. In beiden Fällen verlängerte sich mit abnehmender Dosis des spezifischen Giftes nur die Zeit bis zum Eintritt der Lähmung.

Was die merkwürdige Beobachtung betrifft, dafs das Serum III sich der paralysierenden Wirkung auch durch halbstündiges Erhitzen auf über 70° C nicht berauben liefs, so steht sie meines Wissens einzig da. Die anderen Antiparamäcien-Sera liefsen sich durch einstündiges Erhitzen auf 56° der lähmenden und agglutinierenden Eigenschaften berauben. Worin die Verschiedenheit der Sera begründet liegt, ist nicht zu sagen (das Material für das Serum III war in der Wärme gezüchtet und nach der Löfflerschen Methode behandelt worden). Dafs übrigens Sera mit vorwiegend paralysierenden Eigenschaften sich der Erhitzung gegenüber anders verhalten als die gewöhnlichen lytischen Sera, geht aus Angaben von Laveran und Mesnil (l. c.) hervor: Die Erwärmung des Antitrypanosomenserums auf 55° zerstörte

nur halb dessen lähmende Eigenschaften, selbst die Erwärmung auf 64° vermochte dies nicht vollständig, während bei 64° die Agglutinine vollständig zugrunde gegangen waren. Moxter (l. c.) berichtet, dafs die lähmende Wirkung seines Spermotoxins durch $1^1/_2$—2stündiges Erhitzen auf 58° verschwand.

So viel über die Wirkungen und die Eigenschaften der spezifischen, gegen Protozoen gerichteten Sera, soweit sie bis jetzt bekannt sind. Was die gegen diese Sera von seiten der Protozoen erwerbbare Immunität betrifft, so ist durch meine obigen Versuche sichergestellt, dafs eine solche, wenigstens bei den Paramäcien, sehr leicht eintritt. Diese Tatsache dürfte, wenn sie in gleicher Weise für parasitische Protozoen konstatiert wird, von klinischer Bedeutung sein, indem es bei spontaner Infektion mit krankheitserregenden Protozoen für den Verlauf der Krankheit mafsgebend sein wird, welcher von den beiden Organismen sich zuerst eine wirksame Immunität gegen die ihm schädlichen Stoffe des anderen verschafft. Jedenfalls darf man daran denken, dafs die Chronizität mancher und die Unheilbarkeit mancher Infektionskrankheiten, insbesondere der durch Protozoen verursachten, darauf beruhen kann, dafs die pathogenen Keime gerade gegenüber den vom Organismus produzierten, spezifisch gegen sie gerichteten Säften aktive Immunität erwerben können.

## Literatur.


1. v. Dungern, Immunserum gegen Epithel. Münchener med. Wochenschrift, 1899, Bd. 38.
2. Funck, Das antileukozytäre Serum. Zentralbl. f. Bakt., 1900, Bd. 27.
3. R. Koch, Deutsche med. Wochenschrift, 1900, Bd. 49 u. 50.
4. Kölsch, Untersuchungen über die Zerfließungserscheinungen der ciliaten Infusorien. Zool. Jahrbücher, 1902, Bd. 16, S. 273.
5. Kossel, Die Hämoglobinurie der Rinder. Kolle Wassermann, Handbuch der path. Mikroorganismen, Bd. 1.
6. Landsteiner, Zur Kenntnis der spezifischen auf Blutkörperchen wirkenden Sera. Zentralblatt f. Bakt., Bd. 25, S. 547.
7. Laveran u. Mesnil, Recherche sur le trypanosome des rats. Ann. de l'Inst. Past., 1901, Bd. 15, S. 690.
8. Löffler, Über ein neues Verfahren zur Gewinnung von Antikörpern. Deutsche med. Wochenschrift, 1904, 30. Jahrgang, Nr. 52.
9. Mesnil u. Monton, Sur une diastase protéolytique extraite des infusoires ciliés. Compt. rend. Soc. de Biologie, 1903, T. 55, p 1016.
10. Metschnikoff, Etudes sur la resorption des cellules. Ann. Inst. Past., 1899, Bd. 13, S. 741.
11. Metschnikoff, Immunité, 1902.
12. Moxter, Über ein spezifisches Immunserum gegen Spermatozoen. Deutsche med. Wochenschrift, 1900, 14.
13. Paltauf, Agglutination. In Kolle-Wassermanns Handbuch, Bd. 4.
14. Rabinowitsch u. Kempner, Z. f. Hygiene, 1899, Bd. 30, S. 251.
15. Rösle, Morphologische Veränderungen der roten Blutkörperchen durch inaktiviertes, spezifisch lytisches Blutserum. Münchener med. Wochenschrift, 1904, Nr. 42.

# Studien zur relativen Photometrie.[1])

## III. Teil.

Vom

Dozenten Dr. **Stan. Růžička.**

(Aus dem k. k. Hygienischen Institute des Prof. Dr. Gustav Kabrhel in Prag.)

Ich habe in meiner früheren Arbeit[2]) gezeigt, dafs der Lichtcharakter einzelner Arbeitsplätze (z. B. in der Schule) in bezug auf das Taglicht am besten in der folgenden Art für hygienische Zwecke fixiert und ausgedrückt werden kann: Man liest an einem nebligen dunklen Tage — bei gleichmäfsig diffus leuchtendem Himmelsgewölbe — gleichzeitig die Lichtintensität des zu beurteilenden Arbeitsplatzes und des Himmelsgewölbes im Zenit mittels eines Photometers ab und berechnet das Verhältnis dieser zwei Intensitäten. So findet man z. B., dafs ein Platz nur 1% der gleichzeitigen Lichtintensität des Himmelsgewölbes aufweist, ein anderer 2%, ein dritter 5%.

Welchen Wert hat eine solche Angabe für die hygienische Beurteilung des betreffenden Arbeitsplatzes in bezug auf seine Taglichtbeleuchtung?

Es ist nötig, sich zu vergegenwärtigen, dafs das Grunderfordernis der Hygiene in bezug auf die Taglichtbeleuchtung

1) Vorgelegt der Böhm. Kaiser Franz-Josephs-Akademie in Prag am 7. April 1905.

2) Dieses Archiv, Bd. 51.

so lautet, dafs die absolute Lichtintensität eines Arbeitsplatzes niemals unter eine bestimmte Minimalgröfse sinken darf, als welche im allgemeinen für gewöhnliche Schularbeiten die Intensität von etwa 20—25 Meterkerzen angenommen wird.

Wir wollen uns nun vorstellen, dafs man wüfste, innerhalb welcher Grenzen sich die Lichtintensität des Himmelsgewölbes binnen des ungünstigsten — in bezug auf die Taglichtintensität — Jahresteiles während der Unterrichtsstunden bewegt.

Nehmen wir an, dafs die Lichtintensität des Himmelsgewölbes an den dunkelsten nebligen Tagen (aufser der ausnahmsweise stark dunklen Tage) nicht unter 2000 Meterkerzen sinken würde.

Es ist klar, dafs dann ein Arbeitsplatz, an welchem wir mittels meiner Methode — der relativen Photometrie — bei gleichmäfsig diffus leuchtendem Himmelsgewölbe den Quotienten 1% gefunden haben (welcher bedeutet, dafs am Arbeitsplatze eine hundertmal kleinere Lichtintensität als am Himmelsgewölbe abgelesen wurde), bei solcher »minimaler« Tageslichtbelligkeit (die Intensität des Himmelsgewölbes = 2000 Meterkerzen), die Lichtintensität von 20 Meterkerzen, also die noch minimal zulässige haben wird. Ferner ist es klar, dafs Arbeitsplätze, welche einen kleineren Quotienten als 1% aufweisen, bei obiger minimaler Tageshelligkeit eine geringere als die minimal noch zulässige (= 20 Meterkerzen) Lichtintensität haben.

Aus dem Angeführten ergibt sich, dafs man im Sinne meiner Methode — der relativen Photometrie — das hygienische Erfordernis in bezug auf die Taglichtbeleuchtung eines Arbeitsplatzes einfach in der Weise formulieren kann, dafs ein Arbeitsplatz für gewöhnliche Schularbeit bei nebligem dunklem Wetter, bei gleichmäfsig diffus leuchtendem Himmelsgewölbe wenigstens 1% der im Zenit am Himmelsgewölbe gleichzeitig abgelesenen Lichtintensität aufweisen mufs.

Die Frage aber, innerhalb welcher Grenzen sich die Lichtintensität des gleichmäfsig bedeckten Himmelsgewölbes im ungünstigsten Jahresteile während der Unterrichtsstunden bewegt, ist noch nicht systematisch bearbeitet worden.

Ich mufste also selber solche systematische Messungen ausführen, deren Resultate für den verlaufenen Winter im folgenden mitgeteilt werden.

Die Messungen habe ich am 24. November 1904 angefangen uud mit einer kleinen Unterbrechung kontinuierlich bis Ende Jänner 1905 fortgeführt. Und zwar wurde die Lichtintensität des Himmelsgewölbes im Zenit mittels eines Weberschen Photometers abgelesen. Der Apparat war unter einem Dachfenster des Dachbodenraumes im Institute, gegen das Himmelsgewölbe gerichtet, dauernd aufmontiert. Zur Ablesung wurde das Fenster immer geöffnet. Die Lampe des Apparates war gründlich von Vorhängen umgeben, um Störungen der richtigen Lage der Benzinflamme durch Luftströmungen zu vermeiden.

Die Ablesung wurde immer um 9 Uhr vormittags und um 3 Uhr nachmittags vorgenommen. Diese Ablesungszeitpunkte sind aus folgenden Gründen ausgewählt worden: Es ist nicht nötig, zu verlangen, dafs die Lichtintensität während der ganzen Unterrichtsdauer des Tages — von 8 Uhr früh bis 4 Uhr nachmittags — der oben angeführten hygienischen Anforderung entspräche. Denn es ist möglich für den ungünstigsten Jahresteil auf die erste und letzte Stunde solche Lektionen zu verlegen, welche kein Lesen, Schreiben und ähnliche die Augen besonders anstrengende Arbeiten erfordern.

Es genügt also, wenn die Beleuchtung von 9 Uhr vormittags bis 3 Uhr nachmittags den Anforderungen entspricht. [1]) Eventuell mufs man sich in der ersten bezw. letzten Stunden durch künstliche Beleuchtung aushelfen.

Anfangs habe ich die Messungen nur bei gleichmäfsiger oder wenigstens annähernd gleichmäfsiger Bedeckung des Himmels ausgeführt (Ergebnisse in der Tabelle durch fettgedruckte Zahlen ausgedrückt), später aber vergleichshalber auch bei ungleichmäfsiger Bedeckung.

---

1) Natürlich kommen — ausnahmsweise — auch nach 9 Uhr, bzw. vor 3 Uhr niedrigere Intensitäten vor als die zu diesen Zeitpunkten gemessenen.

**Die Lichtintensität des Himmelsgewölbes im Zenit (in Meterkerzen).**

| Datum | um 9 Uhr vorm. | Bedeckung des Himmels | um 3 Uhr nachm. | Bedeckung des Himmels |
|---|---|---|---|---|
| November | | | | |
| 24. | 5446 | | 1209 | |
| 25. | 3916 | | — | unbedeckt |
| 26. | | unbedeckt | | unbedeckt |
| 27. | | | | |
| 28. | 4707 | | — | unbedeckt |
| 29. | 7554 | | 5768 | |
| 30. | 3566 | | 3512 | |
| Dezember | | | | |
| 1. | 1879 | | 1240 | |
| 2. | 1143 | | 2448 | |
| 3. | 1360 | | 1106 | |
| 4. | 1183 | | — | |
| 5. | — | ungleichmäfsig bedeckt | — | ungleichmäfsig bedeckt |
| 6. | 3896 | | — | |
| 7. | 2126 | | — | |
| 8. | 3359 | | 2448 | |
| 9. | 2706 | | — | ungleichmäfsig bedeckt |
| 10. | 4120 | | — | |
| 11. | 1824 | | 1620 | |
| 12. | 3896 | | 2158 | |
| 13. | 5643 | | 1850 | |
| 14. | 2204 | | 30 [1]) | |
| 15. | 1156 | | — | ungleichmäfsig bedeckt |
| 16. | — | ungleichmäfsig bedeckt | 2022 | |
| 17. | 1277 | | 1839 | |
| 18. | 1824 | | 1630 | |
| 19. | — | ungleichmäfsig bedeckt | — | ungleichmäfsig bedeckt |
| 20. | 3896 | | 527 | |
| 21. | 3560 | etwas ungleichmäfsiger bedeckt | 4572 | etwas ungleichmäfsiger bedeckt |
| 22. | 2278 | blauer Himmel, wenige Wolken | 1214 | blauer Himmel |
| 23 | 1680 | dito | 2926 | |
| 24. | 3776 | ungleichmäfsig bedeckt | 4572 | ungleichmäfsig bedeckt |

25. Dezember bis 3. Januar wegen Krankheit nicht gemessen.

1) Von 10 Uhr angefangen ein ganz aufsergewöhnlich dunkler Tag (um 11 Uhr vormittags 153 Meterkerzen).

| Datum | um 9 Uhr vorm. | Bedeckung des Himmels | um 3 Uhr nachm. | Bedeckung des Himmels |
|---|---|---|---|---|
| Januar | | | | |
| 4. | 3006 | | 4282 | |
| 5. | 4147 | | 2572 | |
| 6. | 3896 | ziemlich ungleichmäfsig bedeckt | 3520 | |
| 7. | 2572 | | 4572 | |
| 8. | — | | — | |
| 9. | 2390 | blauer Himmel | 2448 | blauer Himmel |
| 10. | 2777 | ungleichmäfsig bedeckt | — | |
| 11. | 3359 | | 4282 | } ungleichmäfsig bedeckt |
| 12. | 6477 | | 4572 | |
| 13. | 2448 | | 5353 | |
| 14. | 3779 | ungleichmäfsig bedeckt | 3359 | klar, bläulicher Himmel |
| 15. | — | | — | |
| 16. | 3175 | | 4282 | |
| 17. | 2448 | | 4019 | |
| 18. | 4572 | } ungleichmäfsig bedeckt | 5643 | ungleichmäfsig bedeckt |
| 19. | 4959 | | 2777 | blauer Himmel |
| 20. | 2448 | bläulicher Himmel | 4572 | bläulicher Himmel |
| 21. | 4282 | ungleichmäfsig bedeckt | 2777 | blauer Himmel |
| 22. | — | | — | |
| 23. | 2638 | bläulicher Himmel | — | |
| 24. | 3175 | | 4572 | blauer Himmel |
| 25. | 8257 | | 5956 | |
| 26. | 4572 | ungleichmäfsig bedeckt | 3667 | ungleichmäfsig bedeckt |
| 27. | 4572 | dito | 4572 | dito |
| 28. | 1898 | | 1898 | |
| 29. | 2159 | | 2159 | |
| 30. | 2159 | | 2088 | |
| 31. | 3896 | | 7512 | |
| Februar | | | | |
| 1. | 6478 | | | |

Die Tabelle zeigt, dafs — mit Ausnahme des ungünstigsten Monates: Dezember — die Intensität des Himmelsgewölbes im Zenit zwischen der 9. Stunde vormittags und der 3. Stunde nachmittags sich fast ausnahmslos oberhalb des Wertes von 1500 Meterkerzen erhält, ja sogar fast ohne Ausnahme oberhalb des Wertes

von 2000 Meterkerzen: Unter 56 Messungen ergaben nur 3 (5,4%) Fälle Intensitäten unterhalb 2000 und von diesen dreien nur ein Fall (1,8%) eine Intensität unterhalb 1500 Meterkerzen.

Im Dezember ergaben die Messungen viel ungünstigere Resultate: Unter 39 Messungen wiesen ganze 19 (= 48,7%) eine niedrigere Intensität als 2000 Meterkerzen, von diesen 19 sogar 11 (28,2%) Fälle weniger als 1500, und von diesen noch 3 (7,4%) weniger als 1000 Meterkerzen.

Kehren wir jetzt zu der vorläufig vorher gemachten Annahme, dafs wir im Sinne meiner Lichtmessungsmethode als das Minimum der Taglichtintensität an einem Arbeitsplatze 1% der im Zenit des Himmelsgewölbes abgelesenen Intensität bezeichnen würden. Wie gestaltete sich die Taglichtbeleuchtung eines solchen Arbeitsplatzes im Verlaufe der verflossenen Winterperiode?

Im Dezember herrschte unter 39 Fällen 19 mal an diesem Platze um 9 Uhr vormittags bzw. um 3 Uhr nachmittags eine geringere Intensität als die minimal zugelassenen 20 Meterkerzen; sogar 11 mal eine geringere als 15, ja 3 mal eine geringere als 10 Meterkerzen.

Es ist klar, dafs uns auch die Minimalanforderung 1% für diese ungünstigste Jahreszeit nicht vor einer bedeutenden Anzahl von Fällen schützt, in welchen zwischen 9 Uhr vormittags und 3 Uhr nachmittags an den am schwächsten beleuchteten Arbeitsplätzen die Belichtungsintensität selbst bedeutend unter das zugelassene Minimum sinken würde.

Natürlich genügt es in solchen Fällen, einfach, die künstliche Beleuchtung anzuwenden. Das kostet natürlich Geld, und es ist einfach Sache des Kalküls, bis wieweit es vorteilhafter ist, die ungenügende Taglichtbeleuchtung der Schulzimmer mittels künstlicher Beleuchtung zu ersetzen, und wieweit man wieder besser auf seine Rechnung kommt durch Erreichung eines reichlicheren Taglichtzutrittes mittels erhöhten Bauaufwandes inklusive der Grundstückbeschaffung, wodurch man einen höheren Minimalquotienten für die Taglichtbeleuchtung der dunkelsten Arbeits-

plätze als 1 % erreichen kann.[1]) Vom rein hygienischen Standpunkte mufs man natürlich immer dem Taglicht Vorzug geben.

Auf Grundlage obiger Messungen nehme ich vorläufig[2]) als »minimale Tageshelligkeit« 2000 Meterkerzen (im Zenit des Himmelsgewölbes gemessen) an.

---

Was die Frage betrifft, auf welche Art es möglich ist zu ermitteln, wieviel Prozente von der Intensität des Himmelsgewölbes die an einem bestimmten Arbeitsplatze herrschende Intensität beträgt, soll folgendes angeführt werden:

1. Bei einem fertigen Gebäude kann man die von mir in meiner oben zitierten Arbeit angegebene Methode benutzen. (Gleichzeitige Ablesung der Lichtintensität am Himmelsgewölbe und am betreffenden Arbeitsplatze.)
2. Wenn erst nur die Pläne eines zu bauenden Gebäudes vorliegen, so ist der folgende Weg möglich:

Es wird ein teilweises Modell des Gebäudes angefertigt, an welchem alle den Zutritt des Taglichtes beschränkenden Wände, Dächer usw. genau ausgeführt wären (dabei sind die ungünstigsten durch die Bauordnung zugelassenen Verhältnisse und nicht die gerade vorhandenen zu berücksichtigen.) Im Modell des Gebäudes werden nur die Parterreklassen ausgeführt und in diesen wieder nur die dunkelsten Arbeitsplätze; denn es genügt, die ungünstigsten Plätze zu berücksichtigen: wenn diese den Anforderungen entsprechen, entsprechen desto besser die günstigeren. Auf der oberen Fläche der Decke des eben auszumessenden Raumes wird ein Apparat aufgestellt, welcher durch einen Spiegel das Bild des Zenitteils des Himmelsgewölbes[3]) in das Auge des

---

1) Bei der Erhöhung der Minimalforderung auf 1,5 % würden von jenen 39 Fällen nur in 10 die dunkelsten Plätze eine geringere Intensität als 20, davon nur 3 eine geringere Intensität als 15 Meterkerzen aufweisen.

2) Der definitive Wert soll erst auf Grundlage eines gröfseren Materiales gewählt werden.

3) Die Messung mufs auf einem freien Platze unter freiem Himmel ausgeführt werden.

Beobachters reflektiert; ein zweiter Spiegel reflektiert ebenso das Bild eines weifsen Papierstückchens, welches auf dem zu messenden Arbeitsplatze liegt (oberhalb des Arbeitsplatzes mufs zu diesem Zwecke in der Decke eine kleine Öffnung hergestellt sein). Dieses zweite Bild erscheint dem Auge des Beobachters als ein Fleck auf dem Bilde des Himmelsgewölbes. Mittels eines kalibrierten Rauchglaskeiles wird das letztere Bild soweit verdunkelt, bis es infolge kongruenter Intensität mit dem Bilde des Arbeitsplatzes eben genau verschwimmt.

Auf der Skala wird dann direkt abgelesen — nach der Einstellung des Keiles — wieviel Prozent von der Intensität des Himmelsgewölbes diejenige des betreffenden Arbeitsplatzes beträgt.

Die ziemlich schwierige Konstruktion dieses Apparates bildet den Gegenstand meiner weiteren Arbeit.

# Wasserstoffsuperoxyd als Reinigungs- und Desinfektionsmittel im Friseurgewerbe.

Von

Dr. **R. Hilgermann.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Rubner.)

Bei der Fürsorge zur Verhütung der Übertragung ansteckender Krankheiten in den öffentlichen Gewerben hat sich in dem letzten Dezennium die Aufmerksamkeit der Gesundheitsbehörden auch besonders auf das Friseurgewerbe erstreckt, seitdem wiederholt darauf hingewiesen wurde, wieviel ansteckende Krankheiten in ihrer Entstehung und Weiterverbreitung diesem Gewerbe zuzuschreiben seien. Eine gröfsere Anzahl von Städten hat dementsprechende Polizeiverordnungen erhalten, welche den Friseuren strengste Reinlichkeit und sauberste Reinigung, vor allem Desinfektion der dabei in Betracht kommenden Gerätschaften vorschreiben. Seitdem die Walze und zumeist der Rasierpinsel in Wegfall gekommen, für das Messer Reinigungsmittel zur Genüge verwendbar waren, fehlte noch stets für die Bürste, der Hauptträgerin vieler Keime, ein genügendes Desinfektionsmittel. Die vorhandenen und erprobten Verfahren der Desinfektion mittels Formalin, Alkohol usf. waren teils zu teuer, teils zu zeitraubend, teils schädigten sie das Bürstenmaterial. Da man die Unmöglichkeit einer genügenden und billigen Desinfektion einsah, wurden zahl-

reiche Auswege vorgeschlagen. Jeder Kunde z. B. sollte sein eigenes Friseurbesteck haben, oder für besonders desinfizierte Bürsten sollte ein kleiner Kostenaufschlag erhoben werden. Ersterer Vorschlag ist wohl für die sogenannte Stammkundschaft anwendbar, wie verhält es sich aber mit den Fremden und mit denjenigen, die infolge ihres Berufes gezwungen sind, täglich ihren Wohnort zu wechseln? Der zweite Vorschlag — betreffend den Kostenaufschlag für stets vorrätig zu haltende desinfizierte Bürsten — dürfte gerade durch die wenn auch geringe Verteuerung die meisten vor dem Gebrauch einer derartigen Bürste abschrecken. Und doch mufs Publikum wie Gesundheitsbehörde strengste Sauberkeit und Gefahrlosigkeit verlangen können, anderseits ist auch den Friseuren billigerweise nicht zuzumuten, durch Anschaffung kostspieliger Mittel ihren Verdienst sich schmälern zu lassen.

Bei Beurteilung dieser Verhältnisse und der diesbezüglichen vielfachen Neuerungsvorschläge schien es angebracht, vor allem einmal zu untersuchen, was für Reinigungsmittel der Friseur selbst verwendet, um den an die Sauberkeit seiner Gerätschaften gestellten Anforderungen gerecht zu werden. Mufste doch die Beantwortung dieser Fragen im positiven oder negativen Sinne auch für die weitere Benutzung derartiger Mittel von ausschlaggebender Bedeutung sein. Ergaben sich nämlich bei einer Prüfung der Leistungsfähigkeit der zurzeit im Friseurgewerbe üblichen Reinigungsmethoden befriedigende Resultate, so fiel damit auch jeder Grund, die Friseure zum Gebrauch neuer Reinigungsmittel anzuhalten, fort, und würde eine genaue Festsetzung der Anwendungsweise der einzelnen Mittel genügt haben, um einen befriedigenden Ausweg zu sichern.

Im entgegengesetzten Falle mufste gerade von seiten der Gesundheitsbehörde die Anwendung von Reinigungsmethoden untersagt werden, die nutzlos, höchstens geeignet sind, eine noch gröfsere Verschmutzung und Infektionsgefahr herbeizuführen. In bezug auf letzteren Gesichtspunkt war Herr Regierungsmedizinalrat Nesemann so gütig, mir die am meisten in Frage kommenden Reinigungsverfahren zugänglich zu machen.

Die zurzeit gebräuchlichsten Methoden bestehen teils in einer trockenen Reinigung, teils in einer Waschung der Bürsten. Von ersterer Art wird besonders das Ausklopfen mit Mehl bevorzugt, von letzterer das Auswaschen in Soda- und Salmiakgeistlösungen.

Bei einer Nachprüfung dieser Methoden ergab sich, dafs sie wohl eine leidliche, dem Auge sichtbare Reinigung der Bürsten zu erzielen imstande sind, doch ist die hierbei erfolgte etwaige Keimverminderung eine viel zu geringe, als dafs sie den vom hygienischen Standpunkte aus zu stellenden Anforderungen hätte entsprechen können.

Noch einen anderen, nicht zu gering einzuschätzenden Nachteil haben diese Reinigungsarten insofern, als sie sämtlich ziemlich zeitraubend und umständlich sind, denn nur bei einer leicht zu handhabenden und schnellen Methode wird sich der Friseur zu einer öfteren Reinigung seiner Bürsten verstehen wollen.

Eine wirklich befriedigende Lösung dürfte erst dann zu erwarten sein, sobald dem Friseur ein Mittel zur Verfügung steht, das für ihn nicht nur als Desinfektions-, sondern auch als Reinigungsmittel brauchbar, gleichzeitig billig, völlig geruchlos, ungiftig ist und die Bürsten nicht schädigt, dabei darf das Verfahren nicht umständlich und zeitraubend sein.

Auf Anregung von Herrn Geheimrat Rubner habe ich diesbezügliche weitere Untersuchungen gemacht und glaube nunmehr in dem Wasserstoffsuperoxyd ein all diesen Anforderungen genügendes Mittel gefunden zu haben.

Verwendung fand das sog. 10proz. Wasserstoffsuperoxyd (Marke Schering), das in 100 Gewichtsteilen 3 Gewichtsteile $H_2O_2$ enthält. Auch machte ich Versuche mit dem neuerdings von Merck in den Handel gebrachten 30proz. Perhydrol. Letzteres wirkte natürlich bedeutend prompter, doch kann dasselbe seines hohen Preises wegen kaum in Betracht kommen. Da es sich aber bei diesen Versuchen um eine allen zugängliche Verwertung handeln sollte, bezog ich sodann aus den verschiedensten Geschäften das nötige Wasserstoffsuperoxyd, um gleichzeitig die

Möglichkeit einer allgemeinen Anwendung in ihren Erfolgen kontrollieren zu können.

Als Versuchsmaterial diente mir aufser einer grofsen Anzahl in Gebrauch befindlicher Friseurbürsten noch Bürsten, die ich mit Staphylokokkenkulturen, einmal auch mit Trichophyton und Favus verunreinigte. Diese Verunreinigungsversuche führte ich in der Weise aus, dafs ich die Bürsten mit 2—3 24 Stunden alten Staphylokokkenbouillon-Kulturen übergofs und sodann durch mehrere Stunden im Brutschrank bei 37° trocknete.

Die zu reinigenden Bürsten wurden zusammen mit einem im Gebrauch befindlichen Kamme für wechselnde Zeiten in verschieden starken Lösungen in Standgefäfse gestellt, einige Male gründlichst durchgekämmt und sorgfältig mit sterilem Wasser durchspült.

Sowohl vor als nach der Behandlung der Bürsten mit $H_2O_2$ wurden stets ca. fünf Borsten aus den verschiedensten Stellen der Bürsten mit steriler Pinzette herausgezogen, auf sterile Petrischalen gelegt und teils mit Gelatine, teils mit Agar übergossen, oder die Borsten wurden in sterile Bouillon gebracht, um auf diese Weise die besten Wachstumsbedingungen für vorhandene Keime zu ermöglichen. Gleichzeitig wurden stets Kontrollplatten angelegt.

Nach zahlreichen Vorversuchen bin ich zu dem Resultat gekommen, dafs für die Zwecke des Friseurgewerbes am geeignetsten eine 5proz. Lösung ist, d. h. die im Handel erhältliche Stammlösung ist zur Hälfte mit Wasser zu verdünnen. In dieser verbleiben die Bürsten 30 Minuten und werden sodann mit dem betreffenden Kamm ausgebürstet. Bei diesem Verfahren blieben stets die nach der Reinigung angelegten Platten steril oder zeigten höchstens ausnahmsweise vereinzelte Kolonien, während die Platten vor der Reinigung massenhaft Kolonien aufwiesen. Am besten sind die Bürsten in Standgefäfse zu stellen, eventuell gewöhnliche Wassergläser, während Schalen nicht zu empfehlen sind.

Aufser den Bürsten werden auf diese Weise gleichzeitig die Kämme gereinigt.

Folgende Tabelle zeigt die Endergebnisse:

**Versuch I.**

**Untersuchungsmaterial: 5 in täglichem Gebrauch befindliche Friseurbürsten.**

| Nummer der Bürste | Konzentration der zur Reinigung verwandten $H_2O_2$-Lösung | Einwirkungszeit | Nährboden | Bürste vor der Behandlung mit $H_2O_2$ | Desinfektionserfolg nach der Behandlung der Bürste mit $H_2O_2$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | 5 proz. | 30 Min. | Agar, Gelatine, Bouillon | Auf den Platten zahlreichste Kolonienbildung, sowohl entlang den Borsten, als auch im freien Gesichtsfeld. Bouillon stark getrübt. | Steril |
| 2. | | | | | » |
| 3. | | | | | » |
| 4. | | | | | » |
| 5. | | | | | » |

**Versuch II.**

**Infektionsmaterial: Staphylokokken.**

| Nummer der Bürste | Konzentration der zur Reinigung verwandten $H_2O_2$-Lösung | Einwirkungszeit | Nährboden | Bürste vor der Behandlung mit $H_2O_2$ | Desinfektionserfolg nach der Behandlung der Bürste mit $H_2O_2$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | 5 proz. | 30 Min. | Agar, Gelatine, Bouillon | Auf den Platten reichlichste Staphylokokken-Kolonien. Bouillon stark getrübt. | Steril |
| 2. | | | | | » |
| 3. | | | | | » |
| 4. | | | | | » |
| 5. | | | | | » |

Bei Versuch I und II wurde jede Bürste für sich in einer stets neu hergestellten Lösung gereinigt, bei dem folgenden Versuch III hingegen dieselbe Lösung zur Reinigung von drei verschiedenen Bürsten benutzt. Das bei diesem Versuch erzielte Ergebnis zeigt für die Verwendung im Friseurgewerbe, also für die allgemeine Praxis, dafs in derselben Lösung ohne Beeinträchtigung des Resultats 2—3 Bürsten gereinigt werden können. Bedenkt man aber, dafs es sich bei meinen Versuchen stets um arg ver-

nachlässigte oder absichtlich mit Infektionsmaterial imprägnierte Bürsten handelte, so würde sich bei steter Anwendung des Mittels und dementsprechender zunehmender Sauberkeit die Leistungsfähigkeit derselben Lösung noch erheblich steigern lassen und hiermit die Auslagen stetig billigere werden.

**Versuch III.**

**Untersuchungsmaterial: 3 in täglichem Gebrauch befindliche Haarbürsten.**

| Nummer der Bürste | Konzentration der zur Reinigung verwandten Lösung | Einwirkungszeit | Nährboden | Vor der Behandlung mit $H_2O_2$ | Desinfektionserfolg nach der Behandlung mit $H_2O_2$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | 5 proz. | 30 Min. | Agar, Gelatine, Bouillon | 135 K. | Steril |
| 2. | | | | 90 » | » |
| 3. | | | | 105 » | 1 K. |

Haben die in vorstehender Tabelle angeführten Versuchsreihen bewiesen, dafs bei dieser Art der Reinigung eine gute desinfizierende Wirkung erzielt wird, so ergibt Versuch IV, dafs die bei meinen Versuchen verwandte Wasserstoffsuperoxydlösung vor allem auch eine prophylaktische Wirkung auszuüben imstande ist. Mit diesem Nachweis der Prophylaxis ist aber in der Verhütung der Weiterverbreitung ansteckender Krankheiten in den öffentlichen Gewerben ein weiterer Schritt getan.

**Versuch IV.**

**Untersuchungsmaterial: 3 mit $H_2O_2$ vorbehandelte Bürsten.**
**Infektionsmaterial: Staphylokokken.**

| Nummer der Bürste | Konzentration der zur Reinigung verwandten Lösung | Einwirkungszeit | Nährboden | Vor der Behandlung mit $H_2O_2$, nach der Infektion mit Staphylokokken | Nach der Behandlung mit $H_2O_2$ (Desinfektionserfolg | Kontrollröhrchen u. Platte |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. | 5 proz. | 30 Min. | Agar, Gelatine, Bouillon | Steril | Steril | + |
| 2. | | | | » | » | + |
| 3. | | | | » | » | + |

Um die Desinfektionswirkung der bei obigen Versuchen benutzten Wasserstoffsuperoxydlösung noch eingehender festzustellen und zu prüfen, machte ich einen Kontrollversuch mit Milzbrandsporenseidenfäden. Es zeigte sich hierbei, dafs die 5proz. Lösung auch zur Abtötung dieser resistenten Sporen in verhältnismäfsig kurzer Zeit ausreichend ist. Seidenfäden, die die zur Abtötung der Milzbrandsporen drei Minuten strömendem Wasserdampf und 24 Stunden Sublimatlösung (1 : 1000) ausgesetzt werden mufsten, waren nach 50 Minuten langem Verweilen in der Wasserstoffsuperoxydlösung abgetötet.

Wenn auch die im vorhergehenden mitgeteilten Resultate die Möglichkeit einer vollkommenen Sterilisierung der als Versuchsmaterial benutzten Friseurbürsten erwiesen haben, so mufs doch das Wasserstoffsuperoxyd noch andere Eigenschaften besitzen, die den Vorschlag einer eventuellen Einführung desselben in die Hygiene der Friseurstuben nicht nur als wünschenswert, sondern vor allem auch als berechtigt erscheinen lassen. Bei meinen Versuchen bin ich nun zu dem Resultat gekommen, dafs neben der Keimabtötung vor allem auch gleichzeitig eine gute Reinigung, selbst der verschmutztesten Bürsten, erzielt wird, welch letzteres mir auch von Fachleuten bestätigt wurde. Bürsten, welche vor der Reinigung mit Wasserstoffsuperoxyd eine dichte, verfilzte Schmutzschicht auf dem Bürstenboden und entlang den Bürstenbündeln zeigten, waren nach der Reinigung vollständig von diesen gesäubert.

Mit dem Moment der gleichzeitigen Reinigung und Desinfektion in kürzester Zeit fällt aber jeder Einwand der Friseure von einer unnötigen Überlastung oder Inanspruchnahme in sich zusammen, und kann sodann ein Zwang von seiten der Gesundheitsbehörde nicht mehr als unbillige Forderung angesehen werden. Da ferner, wie ich oben beschrieben, die Reinigung nur Bruchteile von Minuten dauert, würde dieses Verfahren vielleicht schon an und für sich allmählich die Indolenz der Friseure überwinden können. Dazu kommt, dafs das Wasserstoffsuperoxyd sehr billig, völlig geruchlos ist und desodorierend

wirkt. Wie bei Versuch III (vgl. Tabelle) angegeben, ist dieselbe Lösung für mehrere Bürsten verwendbar, auch ist sie noch nach mehreren Tagen völlig brauchbar. Das Bürstenmaterial, der Holzboden, Lack oder die Festigkeit der einzelnen Borstenbündel hat, abgesehen von ganz minderwertigem Material, niemals eine Schädigung oder eine Verminderung der Leistungsfähigkeit gezeigt. Die Dehnbarkeit und Reifsbelastung[1]) der Borsten habe ich sowohl vor als nach Anwendung des Wasserstoffsuperoxyds mit dem Präzisionsapparat geprüft und keinerlei Veränderung gefunden. Zu erwähnen wäre, dafs allerdings Bürsten mit gelblichweifsen Borsten eine allmähliche Bleichung erlitten, jedoch dürfte dieses in der Praxis der Friseurstuben eher als Vorteil denn als Nachteil gelten.

Infolgedessen müfste bei seinen vielen einwandsfreien Vorzügen das Wasserstoffsuperoxyd sich wohl eignen, die Kalamität der Friseurstuben in bezug auf Mangel an Reinlichkeit und Ansteckungsgefahren zu beseitigen. Eine dementsprechende Verordnung könnte die Friseure dazu anhalten, täglich zwei- bis dreimal die im Gebrauch befindlichen Bürsten und Kämme einige Zeit in die in einem gläsernen Standgefäfs oder Wasserglas bereitstehende Lösung zu stellen, oder sie wenigstens bei Schlufs des Geschäftes oder mindestens alle zwei bis drei Tage nach den oben angegebenen Vorschriften gründlich zu säubern. Eine Kontrolle wäre jederzeit leicht möglich.

Nicht blofs für das Friseurgewerbe, sondern auch für Krankenhäuser, Anstalten und gröfsere Betriebe wäre dieser Modus der Reinigung wohl ein willkommener Ausweg. Denn nunmehr würden stets vollständig saubere und sterile Bürsten zur Verfügung stehen, gröfsere Anschaffungsausgaben und Übertragungsgefahren aber in Wegfall kommen.

---

1) Weitere Untersuchungen zu dem in § 2,1 der Bekanntmachung des Herrn Reichskanzlers vom 28. Januar 1899 für Rofshaarspinnereien usw. vorgeschriebenen Desinfektionsverfahren mittelst Wasserdampf. Arbeiten aus dem Kais. Gesundheitsamt 1901, von Dr. P. Musehold, Oberstabsarzt.

Herrn Regierungsrat Dr. Weber vom Kais. Gesundheitsamt für die gütige Erlaubnis der Benutzung des Präzisionsapparates ergebenster Dank.

Herrn Geheimen Medizinalrat Dr. Rubner spreche ich für die gütige Anregung, Herrn Professor Dr. Ficker für seine Unterstützung bei Abfassung der Arbeit meinen ganz ergebensten Dank aus. Herrn Regierungsmedizinalrat Dr. Nesemann und Herrn Geheimen Medizinalrat Dr. Granier bin ich für die gütige Unterstützung bei Beschaffung des erforderlichen Materials zu Dank verpflichtet.

## Literatur.

Bruhns, Handbuch d. Hygiene von Dr. Th. Weyl. II. Supplementband, 1902.
Strafsmann, Hygienische Rundschau, 1903, Nr. 5.
Berger, Zentralblatt f. Bakteriologie, 1898, Bd. 23.
Lichtenstein, Deutsche med. Wochenschrift, 1900, Nr. 10.
Blaschko, Berl. kl. Wochenschrift, 1893, Nr. 35.
Kausch, Zentralblatt f. Bakteriologie, 1902, Bd. 31.
Weichselbaum, Münchener med. Wochenschrift, 1898, Nr. 8.
Musehold, Arbeiten aus dem Reichsgesundheitsamt, 1901.
Kolle-Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, 1903, S. 31.
Fluegge, Grundrifs der Hygiene, 1897, S. 46.
Behring, Bekämpfung der Infektionskrankheiten, 1894, S. 98.
Therapeutische Monatsberichte, 1905, 2. Heft.

# Bemerkungen zur Abhandlung von E. Mettler über die bakterizide Wirkung des Lichtes auf gefärbte Nährböden.

Von

**H. v. Tappeiner.**

Die Art der Besprechung der mit dieser Abhandlung[1]) in Beziehung stehenden früheren Arbeiten veranlafst mich zu folgenden Bemerkungen:

1. In der Einleitung wird gesagt, dafs diese Untersuchung durch eine Idee von Dreyer, Gewebe durch Zusatz gewisser Stoffe zu sensibilisieren, veranlafst worden sei. Es wird hierbei zu erwähnen unterlassen, dafs sämtliche hierfür grundlegenden Versuche inklusive dem Hinweis auf Sensibilisierung bereits von anderer Seite 1900 veröffentlicht wurden.[2]) Da ich schon einmal genötigt war, gegen diese historisch unrichtige Darstellung Verwahrung einzulegen und dieselbe von verschiedensten Seiten Zustimmung gefunden hat, genügt es, darauf hinzuweisen.
2. In der am Schlusse folgenden Literaturzusammenstellung ist die von mir gemeinsam mit Jodlbauer ausgeführte Untersuchung über die Wirkung photodynamischer (fluoreszieren-

1) Archiv f. Hygiene, Bd. 53, S. 79.

2) H. v. Tappeiner, Über die Wirkung fluoreszierender Stoffe auf Infusorien nach Versuchen von O. Raab, Münchener med. Wochenschrift, 1900, Nr. 1.

3) H. v. Tappeiner, Zur Kenntnis der lichtwirkenden (fluoreszierenden) Stoffe. Deutsche med. Wochenschrift, 1904, Nr. 16.

der) Stoffe auf Protozoen und Enzyme[1]) zwar zitiert, im übrigen aber unberücksichtigt geblieben. Nur so ist es zu erklären, dafs Ansichten und Behauptungen aufs neue vorgebracht werden, welche dort experimentell widerlegt wurden und fundamentell irrige Sätze Aufnahme finden konnten, wie der folgende: »Das Erythrosin unterscheidet sich vom Eosin durch das Fehlen der Fluoreszenz.«

3. Die Darstellung der Beziehungen der photodynamischen Erscheinung zu Fluoreszenz und Sensibilisierung scheint mir der wirklichen Sachlage nicht zu entsprechen. Da ähnliche Auffassung auch bei einzelnen anderen Bearbeitern dieses Gebietes sich findet, dürfte es angezeigt sein, den gegenwärtigen Stand der Frage, soweit sie Bakterien betrifft, in Kürze zu präzisieren.

Die Frage, ob die photodynamische Erscheinung und die von H. W. Vogel an Bromsilberplatten entdeckte optische Sensibilisierung identische Vorgänge sind, wurde durch die von Jodlbauer und mir angestellten Versuche insoferne verneinend beantwortet, als erstere nach den bisherigen Erfahrungen nur durch Stoffe bewirkt wird, welche die Eigenschaft haben in wässeriger Lösung zu fluoreszieren, letztere hingegen auch durch Stoffe erfolgt, welchen diese Fähigkeit abgeht.

Unentschieden hingegen ist die weitere Frage, ob die photodynamische Erscheinung als Sensibilisierung aufzufassen ist, wenn man darunter ganz allgemein die Steigerung jedes Prozesses versteht, der auch durch Licht allein verursacht wird.

Nun wurde durch unsere Untersuchungen[2]) ermittelt, dafs Bacillus prodigiosus, Proteus vulgaris und Bact. acidi lactici durch verschiedene fluoreszierende Stoffe (Eosin, Erythrosin, Rose bengale, Phenosaframin, Methylenblau) bei Gegenwart von zerstreutem Tageslichte zu einer Zeit (je nach der angewandten Substanz 1—7 Tage) abgetötet werden, in der von einer Wirkung des Lichtes allein

1) D. Arch. f. klin. Medizin, Bd. 80, S. 427—487.

2) A. Jodlbauer u. H. v. Tappeiner, Über die Wirknng photodynamischer (fluoreszierender) Stoffe auf Bakterien. Münchener med. Wochenschrift, 1904, Nr. 25.

noch nichts zu bemerken ist. Anderseits steht fest, dafs Licht allein, insbesondere ultraviolettes Licht, Bakterien zu töten vermag, wenn es sehr intensiv ist. Daraus wird von mehreren Autoren der Schlufs gezogen, dafs es sich bei der Wirkung der fluoreszierenden (photodynamischen) Stoffe um eine Steigerung der einfachen Lichtwirkung handle und somit die Auffassung des Vorganges als Sensibilisation bewiesen sei. Ich halte diesen Schlufs nach dem gegenwärtigen Stande der Untersuchungen noch nicht für berechtigt. Es wird dabei aufser acht gelassen, dafs Tötung von Bakterien auf verschiedene Weise bewirkt werden kann. Zwei Vorgänge, die zu demselben Endeffekt führen, dürfen nicht ohne weiteres als identisch betrachtet werden. Die Berechtigung hierzu ist erst mit dem Nachweise gegeben, dafs dieser Endeffekt, also die Tötung der Bakterien, in beiden Fällen unter denselben Bedingungen erfolgt. Nun ist als notwendige Bedingung der Abtötung von Bakterien durch fluoreszierende Stoffe die Anwesenheit von Sauerstoff erkannt.[1]) Die Frage hingegen, ob diese Bedingung auch für die Abtötung der Bakterien durch Licht allein Geltung hat, ist trotz vieler Untersuchungen noch unentschieden. Der letzte Bearbeiter[2]) derselben verneint dieselbe geradezu; der erste Satz im Resümmee des Resultates seiner Versuche hat folgenden Wortlaut: »Die bakterizide Wirkung des Lichtes ist nicht in dem Sinne ein Oxydationsprozefs, dafs das Vorhandensein des Sauerstoffs eine Bedingung für dieselbe ist. Das Licht vermag nämlich Bakterien zu töten, selbst wenn jede Spur von Sauerstoff fehlt, und wenn sich während der Belichtung kein neuer Sauerstoff durch Dekomposition chemischer Stoffe bilden kann.«

Es unterliegt daher keinem Zweifel, dafs es bei diesem gegenwärtigen Stande der Untersuchung nicht zulässig ist, von der Auffassung der photodynamischen Erscheinung als Sensibilisierung

1) A. Jodlbauer u. H. v. Tappeiner, Die Beteiligung des Sauerstoffs bei der Wirkung fluoreszierender Stoffe. D. Arch. f. klin. Medizin, Bd. 82, S. 520.

2) V. Bie, Ist die bakterizide Wirkung des Lichtes ein Oxydationsprozefs. Finsens med. Lichtinstitut, 1905, Heft 9, S. 73.

wie von einer erwiesenen Tatsache zu sprechen, und ich glaube, es war durchaus gerechtfertigt, die im Münchener Pharmakologischen Institute entdeckte Lichtwirkung bis zur Klärung ihrer Beziehungen zu Fluoreszenz und Sensibilisation mit dem nichts präjudizierenden Namen photodynamische Wirkung zu belegen.

Wie bereits erwähnt, gelten diese Bemerkungen nur für Bakterien. Für Enzyme dürfte die Frage nach Untersuchungen von Jodlhauer und mir, welche an anderer Stelle ausführlich veröffentlicht werden sollen, entschieden sein. Es sei hier nur eine Versuchsreihe als Beleg angeführt.

Gläserne Gaswaschflaschen, aus einem Stück geblasen, wurden im Dunkelzimmer zu ca. $^1/_5$ mit klarer Invertinlösung gefüllt und der überstehende Luftraum nach sorgfältiger Evakuierung durch Wasserstoff, resp. Sauerstoff, ersetzt. Nach dem Zuschmelzen wurden die Flaschen unter guter Kühlung durch Leitungswasser, bedeckt von einer Glasplatte, an zwei aufeinanderfolgenden Tagen von $^1/_2$10—5 Uhr dem intensivsten Sonnenlichte (Juli) ausgesetzt. Zur Kontrolle wurde je eine Sauerstoff- resp. Wasserstoffflasche, mit doppelter Stanniollage umhüllt, daneben gelegt. Diese Dunkelflaschen befanden sich also unter denselben Bedingungen, nur der Lichtzutritt war vollständig ausgeschlossen. Aus sämtlichen Röhren wurden hierauf je 5 ccm Fermentlösung entnommen, mit 5 ccm 15 proz. Rohrzucker versetzt und die Invertierung nach 4 Stunden mit einem Halbschattenapparate nach Laurent polarimetrisch bestimmt

| | Drehung | Gebildeter Invertzucker, wenn vollständige Invertierung = 100 gesetzt wird |
|---|---|---|
| Wasserstoffflasche, dunkel . . | — 0° 45′ | 86,9 % |
| Wasserstoffflasche, hell . . . | — 0° 47′ | 87,3 % |
| Sauerstoffflasche, dunkel . . | — 0° 48′ | 87,6 % |
| Sauerstoffflasche, hell . . . | + 0° 34′ | 66,7 % |

Der Versuch ergibt folgendes: Das Ferment wurde in Wasserstoffatmosphäre durch Sonnenlicht nicht geschädigt, denn seine invertierende Wirkung ist sogar eine Kleinigkeit größer wie in der Dunkelröhre; bei Gegenwart von Sauerstoff hingegen ist die Schädigung unverkennbar, denn die Invertierung blieb um mehr als einen Grad des Polarimeters zurück. Hiermit ist ausschlagend einwandfrei der Beweis erbracht, daß Enzyme durch Licht nur bei Gegenwart von Sauerstoff merkbar geschädigt werden, also unter derselben Bedingung wie bei Anwesenheit von fluoreszierenden Stoffen. Die Wirkung dieser Substanzen besteht daher in einer Steigerung dieser Schädigung und kann als Sensibilisierung im weiteren Sinne des Wortes bezeichnet werden. Die Steigerung ist allerdings eine sehr große, denn bei Zusatz von Eosin unter denselben Bedingungen (Sauerstoffgegenwart und durch Glas und Wasser filtriertes Sonnenlicht) war das Invertin nach $^1/_4$ Stunde nicht bloß deutlich geschädigt, sondern fast vollständig (zu %) vernichtet

# Weitere Versuche mit photodynamischen, sensibilisierenden Farbstoffen. (Eosin, Erythrosin.)

## Prüfung der Wirkung des Tageslichtes auf Lebensfähigkeit und Virulenz von Bakterien, auf Toxine und Antitoxine und auf das Labferment.

Von

Dr. **Hans Huber.**

(Aus der bakteriologischen Abteilung des Hygiene-Institutes der Universität Zürich. Vorstand: Privatdozent Dr. W. Silberschmidt.)

In neuerer Zeit hat das Licht in der Medizin immer mehr an Bedeutung gewonnen. Währenddem klinische Arbeiten darüber schon in ziemlich grofser Zahl vorliegen, sind die experimentellen bis jetzt noch ziemlich spärlich.

Mettler (1) hat im hiesigen Institute Versuche über die bakterizide Wirkung des Lichtes auf mit Eosin, Erythrosin und Fluoreszein gefärbten Nährböden vorgenommen. Ich habe diese Versuche fortgesetzt und erweitert; neben der Prüfung der bakteriziden Wirkung verfolgten meine Untersuchungen vor allem den Zweck, den Einflufs des Lichtes auf Virulenz der Bakterien, auf Toxine und Antitoxine und auf das Labferment eingehend zu prüfen.

---

## Erster Abschnitt.

### Wirkung des Lichtes auf Lebensfähigkeit und Virulenz pathogener Mikroorganismen.

Wie Mettler in seiner Arbeit näher ausführt, wurde die bakterizide Wirkung des Lichtes schon von einigen Forschern wie Downes und Blunt (2), Dieudonné (3), Finsen (4) und Andern experimentell untersucht. Von den neueren Autoren haben

namentlich Tappeiner (5) und seine Schüler, Dreyer (6) und Bie (7) diese Versuche auf Prüfung der Lichtwirkung bei Zusatz von photodynamischen oder sensibilisierenden Substanzen ausgedehnt. Mettler hat diese Versuche an Choleravibrio, Staphylokokkus pyogenes aureus, Bact. Typhi und Bact. coli weitergeführt und dabei gefunden, dafs Eosin oder Erythrosin, dem Nährboden zugefügt, sowohl die entwicklungshemmende als die bakterientötende Wirkung des Lichtes erhöhen. Auch über die Fähigkeit des Lichtes, die Virulenz der pathogenen Bakterien herabzusetzen, ja selbst aufzuheben, wurden schon zahlreiche Versuche gemacht. Arloing (8) impfte verschieden lange Zeit am Sonnenlicht exponiert gewesene Anthraxkulturen auf Meerschweinchen. Die mit den am längsten belichteten Kulturen geimpften Meerschweinchen blieben am Leben, wenn auch in der Bouillon noch Wachstum der Bakterien vorhanden war.

Duclaux (9), Palermo (10) und Chemelewsky (11) zeigten die Virulenzherabsetzung an verschiedenen Mikrokokken und pyogenen Bakterien, d'Arsonval et Charrin (12) an Bac. pyocyaneus.

Von Momont (13) wurde nachgewiesen, dafs der B. anthracis die durch Exposition an der Sonne eingebüfste Virulenz wieder erhielt, indem die exponiert gewesenen Bakterien in Bouillon weitergezüchtet wurden und sich beim wiederholten Tierexperiment als virulent erwiesen. Die Milzbrandbazillen waren nach $6^1/_2$ Stunden Belichtung abgetötet.

Von Santori (14) wird behauptet, dafs die Milzbrandbazillen, ehe sie vom Sonnenlicht getötet werden, eine ächte Abschwächung erfahren.

### Versuchsanordnung.

Als Lichtquelle wurde bei unseren Versuchen ausschliefslich Sonnenlicht, bzw. das diffuse Tageslicht benutzt. Die Kulturen und Lösungen wurden zu diesem Zwecke auf dem Dache des hygienischen Institutes aufgestellt, das Licht hatte also von allen Seiten freien, ungehinderten Zutritt.

Die meisten Versuche wurden in gewöhnlichen Glasgefäfsen, Reagenzröhrchen und in mit Glasdeckel versehenen Schälchen

ausgeführt. Wir wissen, dafs dadurch ein Teil der wirksamen Strahlen, namentlich die ultravioletten, zurückgehalten werden; es wurden deshalb auch einige vergleichende Untersuchungen mit zugedeckten und offenen Schälchen vorgenommen.

In einigen Versuchen wurde die Exposition in einem Kasten aus Rubinglas und unter doppelwandigen Glasglocken, mit verdünnten Eosin- resp. Erythrosinlösungen und mit Alaunlösung gefüllt, wie Mettler die betreffenden Instrumente in seiner Arbeit näher beschreibt, ausgeführt. Die Versuche hatten den Zweck, die Einwirkung des Lichtes zu studieren, nachdem dasselbe rotes Glas passiert hatte, bzw. durch sensibilisierende Farbstofflösungen unter möglichster Wärmeausschaltung filtriert worden war. Die Versuche wurden ferner zum gröfsten Teil in offenen, der Luft zugänglichen Gefäfsen ausgeführt, daneben wurden aber auch einige vergleichende Experimente im Vaknum, d. h. in zugeschmolzenen Röhren unter Luftabschlufs gemacht, da namentlich die Untersuchungen von Bie (15), wie auch von anderen, die Bedeutung des Sauerstoffzutrittes hervorgehoben haben.

Zur Färbung wurden benntzt Eosin (Tetrabromfluoreszein) und Erythrosin (Tetrajodfluoreszein). Die Färbung wurde durchweg vorgenommen im Verhältnis von 1 : 1000.

### 1. Wirkung auf Lebensfähigkeit der Bakterien.

Während Mettler seine Versuche fast nur an Gelatine bzw. Agarnährböden vornahm, wurden unsere Versuche mit Bouillonkulturen resp. Aufschwemmungen in Bouillon ausgeführt. Im Gegensatz zu Bie wurde stets mit grofsen Mengen von Mikroorganismen gearbeitet. Wir verwendeten zu unseren Versuchen zwei pathogene Mikroorganismen und zwar wählten wir einen sogenannten infektiösen, den Streptococcus pyogenes und einen toxisch wirkenden, den Diphtheriebazillus. Die verwendete Kultur des Streptococcus pyogenes war durch eine Anzahl von Tierpassagen von Herrn Dr. Simon in ihrer Virulenz bedeutend erhöht worden, so dafs eine Menge von 0,0001 ccm genügte, um eine Maus zu töten. Der Diphtheriebazillus wurde aus einer Serumkultur eines Falles von Diphtherie isoliert.

Es wurden zu jedem Versuche frische Bouillonkulturen einer Streptokokkenreinkultur resp. Blutserumkulturen einer Reinkultur des Diphtheriebazillus verwendet. Die Streptokokkenbouillonkultur wurde direkt im Verhältnis von 1 : 1000 mit Eosin bzw. Erythrosin gefärbt, von der Diphtherieblutserumkultur wurde eine Aufschwemmung in Bouillon gemacht und dieselbe dann auf gleiche Weise gefärbt.

Die Exposition im Freien wurde in kleinen, sterilisierten Doppelschälchen vorgenommen, ebenso wurden Kulturen in Doppelschälchen in schwarzes Papier eingehüllt, unter Lichtabschlufs zu Kontrollversuchen exponiert.

Nach beendeter Exposition wurden drei Tropfen der betreffenden Kultur auf Schrägagar überimpft und die Agarröhrchen im Brutschrank bei 36° C aufbewahrt. Das Wachstum der Agarkulturen wurde sodann mindestens zwei Tage lang beobachtet und nur deutliche Unterschiede notiert.

Für die Intensität des Wachstums wurden bei den folgenden Versuchen nachstehende Bezeichnungen gewählt:

+++ sehr reichliches Wachstum,
++ reichliches Wachstum,
+ geringes Wachstum,
L einzelne Kolonien,
0 kein Wachstum.

## I. Versuche am Tageslichte.

### 1. Versuch mit Streptokokken.

26. I. Streptokokkenbouillon wird ungefärbt, mit Eosin bzw. Erythrosin gefärbt dunkel und am Lichte 1, 3 und 6 Stunden lang exponiert.

Lichtverhältnisse: hell, keine Sonne.

| Dauer d. Exposition | 1 Stunde | | 3 Stunden | | 6 Stunden | | Kontroll nicht exponiert | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Wachstum am . . | 1. Tag | 2. Tag | 1. Tag | 2. Tag | 1. Tag | 2. Tag | 1. Tag | 2. Tag |
| Bouillon ungefärbt | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| Bouillon mit Eosin gefärbt . . . . | ++ | ++ | 0 | 0 | 0 | 0 | +++ | +++ |
| Bouillon mit Erythrosin gefärbt . | ++ | ++ | 0 | 0 | 0 | 0 | +++ | +++ |

### 2. Versuch mit Diphtheriebazillen.

27. I. Diphtheriebouillon wird ungefärbt, mit Eosin bzw. Erythrosin gefärbt dunkel und am Lichte 1, 3 und 5 Stunden lang exponiert.

Lichtverhältnisse: Sonne, zeitweise trübe.

| Dauer d. Exposition | 1 Stunde | | 3 Stunden | | 5 Stunden | | Kontroll nicht exponiert | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Wachstum am . . | 1. Tag | 2. Tag | 1. Tag | 2. Tag | 1. Tag | 2. Tag | 1. Tag | 2. Tag |
| Bouillon ungefärbt | + | ++ | + | ++ | 0 | + | +++ | +++ |
| Bouillon mit Eosin gefärbt . . . . | + | ++ | 0 | L | 0 | 0 | +++ | +++ |
| Bouillon mit Erythrosin gefärbt . | + | ++ | 0 | L | 0 | 0 | +++ | +++ |

## II. Vergleichende Versuche am Tageslichte und unter dem Rubinglaskasten.

### 3. Versuch mit Diphtheriebazillen.

2. II. Diphtheriebouillon wird ungefärbt, mit Eosin resp. Erythrosin gefärbt, direkt am Lichte 2, 3 und 4 Stunden lang und unter Rubinglaskasten 6, 12, 18 und 24 Stunden lang exponiert.

Lichtverhältnisse: Sonne, zeitweise trübe.

a) Expositlon am Tageslicht.

| Dauer d. Expositlon | 2 Stunden | | 3 Stunden | | 4 Stunden | | Kontroll | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Wachstum am . . | 1. Tag | 2. Tag | 1. Tag | 2. Tag | 1. Tag | 2. Tag | 1. Tag | 2. Tag |
| Bouillon ungefärbt | + | + | L | + | 0 | + | ++ | +++ |
| Bouillon mit Eosin gefärbt . . . . | 0 | L | 0 | L | 0 | 0 | ++ | +++ |
| Bouillon mit Erythrosin gefärbt . | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | ++ | +++ |

b) Expositlon unter Rubinglaskasten.

| Dauer d. Exposition | 6 Std. | 12 Std. | 18 Std. | 24 Std. | Kontroll |
|---|---|---|---|---|---|
| Wachstum am . . | 1. T. | 1. T. | 1. T. | 1. T. | 1. T. |
| Bouillon ungefärbt | +++ | +++ | ++ | ++ | +++ |
| Bouillon mit Eosin gefärbt . . . . | +++ | +++ | ++ | ++ | +++ |
| Bouillon mit Erythrosin gefärbt . | +++ | +++ | + | L | +++ |

### 4. Versuch mit Streptokokken.

3. II. Streptokokkenbouillon wird ungefärbt, mit Eosin resp. Erythrosin gefärbt, direkt am Lichte 2, 4 und 6 Stunden lang und unter Rubinglaskasten 6, 12, 18 und 24 Stunden lang exponiert.

Lichtverhältnisse: Sonne, zeitweise trübe.

a) Exposition am Tageslicht.

| Dauer d. Exposition | 2 Stunden | | 4 Stunden | | 6 Stunden | | Kontroll | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Wachstum am . . | 1. Tag | 2. Tag | 1. Tag | 2. Tag | 1. Tag | 2. Tag | 1. Tag | 2. Tag |
| Bouillon ungefärbt | +++ | +++ | + | +++ | + | ++ | +++ | +++ |
| Bouillon mit Eosin gefärbt . . . . | + | ++ | 0 | 0 | 0 | 0 | +++ | +++ |
| Bouillon mit Erythrosin gefärbt . | 0 | L | 0 | 0 | 0 | 0 | +++ | +++ |

b) Exposition unter Rubinglaskasten.

| Dauer d. Exposition | 6 Std. | 12 Std. | 18 Std. | 24 Std. | Kontroll |
|---|---|---|---|---|---|
| Wachstum am . . | 1. T. | 1. T. | 1. T. | 1. T. | 1. T |
| Bouillon ungefärbt | +++ | +++ | +++ | ++ | +++ |
| Bouillon mit Eosin gefärbt . . . . | +++ | +++ | ++ | + | +++ |
| Bouillon mit Erythrosin gefärbt . | +++ | +++ | + | L | +++ |

## III. Vergleichende Versuche bei Luftzutritt und bei Luftabschluſs.

### 5. Versuch mit Diphtheriebazillen.

4. II. Diphtheriebouillon wird ungefärbt, mit Eosin resp. Erythrosin gefärbt, bei Luftzutritt in Doppelschälchen und bei Luftabschluſs in geschlossenen Glaszylindern nach Absaugen der Luft exponiert, 4 Stunden lang.

Lichtverhältnisse: Sonne.

| Wachstum bei . . . . . | Luftzutritt am | | Luftabschluſs am | |
|---|---|---|---|---|
| | 1. Tag | 2. Tag | 1. Tag | 2. Tag |
| Bouillon ungefärbt . . . | L | + | ++ | +++ |
| „ mit Eosin gefärbt | 0 | 0 | ++ | +++ |
| „ mit Erythrosin gef. | 0 | 0 | ++ | +++ |

### 6. Versuch mit Diphtheriebazillen.

17. II. Diphtheriebouillon wird ungefärbt, mit Eosin resp. Erythrosin gefärbt, unter Luftzutritt in Doppelschälchen und unter Luftabschluſs in zugeschmolzenen Pipetten 4 und 10 Stunden lang exponiert.

Lichtverhältnisse: Sonne, zeitweise trübe.

| Dauer der Exposition . | 4 Stunden | | 10 Stunden | | Kontroll | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Wachstum am . . . . | 1. Tag | 2. Tag | 1. Tag | 2. Tag | 1. Tag | 2. Tag |
| Bouillon ungefärbt bei Luftzutritt . . . . | + | ++ | L | + | ++ | +++ |
| Bouillon mit Eosin gefärbt bei Luftzutritt . | L | + | 0 | L | ++ | +++ |
| Bouillon mit Erythrosin gefärbt bei Luftzutritt | L | + | 0 | L | ++ | +++ |
| Bouillon ungefärbt bei Luftabschluſs . . . | ++ | ++ | L | + | | |
| Bouillon mit Eosin gef. bei Luftabschluſs . . | + | ++ | L | + | | |
| Bouillon mit Erythrosin gef. bei Luftabschluſs | + | + | L | + | | |

## IV. Vergleichende Versuche in offenen und bedeckten Schälchen.

### 7. Versuch mit Streptokokken.

8. II. Streptokokkenbouillon wird ungefärbt, mit Eosin resp. Erythrosin gefärbt, in offenen und bedeckten Schälchen 4 Stunden lang exponiert.

Lichtverhältnisse: Sonne.

| Wachstum in . . . . . | offenen Schälchen | | bedeckten Schälchen | |
|---|---|---|---|---|
| | 1 Tg. | 2 Tg. | 1 Tg. | 2 Tg. |
| Bouillon ungefärbt . . . | ++ | ++ | +++ | +++ |
| » mit Eosin gefärbt | 0 | L | L | + |
| » mit Erythrosin gefärbt . . . . . | 0 | L | L | + |

### 8. Versuch mit Streptokokken.

9. II. Streptokokkenbouillon wird ungefärbt, mit Eosin resp. Erythrosin gefärbt, 3 und 5 Stunden lang in offenen und bedeckten Schälchen exponiert.

Lichtverhältnisse: trüb, etwas Sonne.

| Daner der Exposition . | 3 Stunden | | 5 Stunden | | Kontroll | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Wachstum am . . . . | 1. Tag | 2. Tag | 1. Tag | 2. Tag | 1. Tag | 2. Tag |
| Bouillon ungefärbt in offenen Schälchen . | ++ | +++ | + | + | ++ | ++ |
| Bouillon mit Eosin gef. in offenen Schälchen | ++ | ++ | 0 | L | ++ | ++ |
| Bouillon mit Erythrosin gef. in off. Schälchen | 0 | 0 | 0 | 0 | ++ | ++ |
| Bouillon ungefärbt in bedeckten Schälchen | ++ | +++ | + | ++ | | |
| Bouillon mit Eosin gef. in bedeckten Schälchen . | ++ | ++ | L | + | | |
| Bouillon mit Erythrosin gef. in bed. Schälchen | + | + | L | L | | |

Resümee. Unter den angegebenen Versuchsbedingungen wurden Streptokokken und Diphtheriebazillen durch das Sonnenlicht bzw. diffuse Tageslicht nach etwa 5—6 Stunden Belichtung in ihrer Weiterentwicklung gehemmt. Wurde die Kultur mit Eosin oder mit Erythrosin gefärbt, so erfolgte die Abtötung schon nach 2—3 Stunden Belichtung.

Passieren die Lichtstrahlen vor ihrer Einwirkung auf das Substrat rotes Glas, so tritt die bakterizide Wirkung des Lichtes nicht deutlich ein, d. h. es läfst sich dann selbst nach 24stündiger Belichtung an den ungefärbten Kulturen keine, an den gefärbten nur eine teilweise Wachstumshemmung konstatieren. Ein Vergleich mit der Wirkung des direkten Lichtes ist nicht möglich, da eine genaue Messung der Lichtintensität unter dem Rubinglaskasten nicht vorgenommen worden ist.

Wie frühere Versuche schon ergeben haben, beweisen auch unsere Resultate, dafs der Luftzutritt die bakterizide Wirkung des Lichtes bedeutend erhöht. Wurde der Sauerstoff der Luft abgehalten, so blieb auch nach länger dauernder Belichtung die bakterizide Wirkung des Lichtes aus oder war dieselbe eine sehr geringe.

Die Einwirkung der Wärme war bei unseren Versuchen jedenfalls sehr gering, indem dieselben in den Monaten Januar und Februar vorgenommen wurden, wo ja die Wärmeproduktion des Sonnenlichtes bei relativ starker Lichtintensität noch eine geringe ist.

### 2. Wirkung auf Virulenz der Bakterien.

Die folgenden Versuche wurden in gleicher Weise wie die vorher beschriebenen mit Bouillonkulturen bzw. Aufschwemmungen von virulenten Streptokokken und Diphtheriebazillen vorgenommen.

Mit den Streptokokkenkulturen wurden sodann weifse Mäuse subkutan am Rücken injiziert, die Diphtheriebazillenaufschwemmungen wurden Meerschweinchen subkutan am Bauche eingespritzt. Zugleich mit diesen Injektionen wurden jeweils drei Tropfen der betreffenden Kultur auf Schrägagar überimpft, um die Wirkung des Lichtes auf Entwicklungshemmung und auf Virulenzschwächung nebeneinander beobachten zu können. Es wurden auch stets Kontrollinjektionen, wie angegeben, mit nicht belichteten Kulturen vorgenommen.

## I. Versuche mit Diphtheriebazillen.

#### a) Exposition am Tageslicht.

30. I. Diphtheriebazillenaufschwemmung wird ungefärbt, mit Eosin bzw. Erythrosin gefärbt dunkel und 1, 2½ und 4 Stunden am Tageslicht exponiert. Die 4 Stunden exponierte Kultur wird zum Tierversuch benutzt.

Lichtverhältnisse: trüb, keine Sonne.

Tierversuch abends 5 Uhr.

Meerschweinchen Nr. 1, 165 g schwer.

Subkutane Injektion von 2,0 ccm Diphtheriebouillon, ungefärbt, nicht exponiert.

Tod nach 2 Tagen.

Meerschweinchen Nr. 2, 175 g schwer.

Subkutane Injektion von 2,0 ccm Diphtheriebouillon mit Eosin gefärbt, nicht exponiert.

Tod nach 2 Tagen.

Meerschweinchen Nr. 3, 180 g schwer.

Subkutane Injektion von 2,0 ccm Diphtheriebouillon mit Erythrosin gefärbt, nicht exponiert.

Tod nach 2 Tagen.

Meerschweinchen Nr. 4, 185 g schwer.

Subkutane Injektion von 2,0 ccm Diphtheriebouillon ungefärbt, 4 Stunden exponiert.

Tod nach 2 Tagen.

Meerschweinchen Nr. 5, 175 g schwer.

Subkutane Injektion von 2,0 ccm Diphtheriebouillon mit Eosin gefärbt, 4 Stunden exponiert.

Tod nach 9 Tagen.

Meerschweinchen Nr. 6, 175 g schwer.

Subkutane Injektion von 2,0 ccmDiphtheriebouillon mit Erythrosin gefärbt, 4 Stunden exponiert.

Bleibt am Leben.

Bei allen gestorbenen Tieren werden durch Sektion die für Diphtherie typischen Veränderungen: subkutanes pseudomembranöses Ödem, Rötung der Nebennieren und kulturell Diphtheriebazillen nachgewiesen.

b) Exposition am Tageslicht und unter Rubinglaskasten.

16. II. Diphtheriebazillenaufschwemmung wird ungefärbt, mit Eosin bzw. Erythrosin gefärbt, 4 Stunden direkt am Lichte, 7 und 14 Stunden unter Rubinglaskasten exponiert.

Lichtverhältnisse: Sonne, zeitweise trübe.

17. II. Tierversuch abends 5 Uhr.

Meerschweinchen Nr. 7, 210 g schwer.

Subkutane Injektion von 2,0 ccm mit Erythrosin gefärbter, nicht exponierter Diphtheriebouillon-Kontroll.

Tod nach $2^1/_2$ Tagen.

Meerschweinchen Nr. 8, 215 g schwer.

Subkutane Injektion von 2,0 ccm ungefärbter, 4 Stunden direkt exponierter Diphtheriebouillon.

Tod nach 2 Tagen.

Meerschweinchen Nr. 9, 200 g schwer.

Subkutane Injektion von 2,0 ccm mit Eosin gefärbter, 4 Stunden direkt exponierter Diphtheriebouillon.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen Nr. 10, 220 g schwer.

Subkutane Injektion von 2,0 ccm mit Erythrosin gefärbter, 4 Stunden direkt exponierter Diphtheriebouillon.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen Nr. 11, 680 g schwer.

Subkutane Injektion von 2,0 ccm ungefärbter Diphtheriebouillon, 14 Stunden unter Rubinglaskasten exponiert.

Tod nach $2^1/_2$ Tagen.

Meerschweinchen Nr. 12, 570 g schwer.

Subkutane Injektion von 2,0 ccm mit Eosin gefärbter Diphtheriebouillon 14 Stunden unter Rubinglaskasten exponiert.

Tod nach $2^1/_2$ Tagen.

Meerschweinchen Nr. 13, 520 g schwer.

Subkutane Injektion von 2,0 ccm mit Erythrosin gefärbter Diphtheriebouillon, 14 Stunden unter Rubinglaskasten exponiert.

Tod nach 8 Tagen.

Bei allen gestorbenen Tieren wird durch Sektion und kulturellen Versuch Diphtherie als Todesursache nachgewiesen.

Das Wachstum auf Agar gibt folgende Resultate:

**Versuch a.**

| Dauer d. Exposition | 1 Stunde | | $2^1/_2$ Stunden | | 4 Stunden | | Kontroll | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Wachstum am . . | 1. Tag | 2. Tag | 1. Tag | 2. Tag | 1. Tag | 2. Tag | 1. Tag | 2. Tag |
| Bouillon ungefärbt | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| Bouillon mit Eosin gefärbt . . . . | ++ | ++ | + | ++ | + | ++ | ++ | ++ |
| Bouillon mit Erythrosin gefärbt . | ++ | ++ | + | + | 0 | L | ++ | ++ |

**Versuch b.**

| Exposition am Tageslicht | 4 Stunden | | Kontroll | |
|---|---|---|---|---|
| Wachstum am . . . | 1. Tag | 2. Tag | 1. Tag | 2. Tag |
| Bouillon ungefärbt . | ++ | ++ | +++ | +++ |
| Bouillon mit Eosin gefärbt . . . . . | 0 | 0 | +++ | +++ |
| Bouillon mit Erythrosin gefärbt . . . | 0 | 0 | +++ | +++ |

| Exposition unter Rubinglaskasten | 7 Stnnden | | 14 Stnnden | | Kontroll | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Wachstum am | 1. Tag | 2. Tag | 1. Tag | 2. Tag | 1. Tag | 2. Tag |
| Bonillon ungefärbt | +++ | ++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| Bouillon mit Eosin gefärbt | ++ | ++ | ++ | +++ | +++ | +++ |
| Bonillon mit Erythrosin gefärbt | ++ | ++ | + | ++ | +++ | +++ |

## II. Versuche mit Streptokokken.

### a) Exposition am Tageslicht.

31. I. Streptokokkenbonillon wird ungefärbt, mit Eosin, bzw. Erythrosin gefärbt dnnkel nnd $1^1/_2$, 3, $4^1/_2$ und 6 Stnnden am Tageslicht exponiert.

Die 3 Stunden exponierte Kultnr wird zum Tierversuch benutzt.

Licbtverhältnisse: trüb, zeitweise etwas Sonne.

Tierversuch abends 6 Uhr.

Maus Nr. 1.

Subkutane Injektion von 0,1 ccm nngefärbter, nicht exponierter Bonillon.

Tod nach 2 Tagen.

Maus Nr 2.

Snbkutane Injektion von 0,1 ccm mit Eosin gefärbter, nicht exponierter Bouillon.

Tod nacb 2 Tagen.

Mans Nr. 3.

Subkutane Injektion von 0,1 ccm mit Erythrosin gefärbter, nicht exponierter Bouillon.

Tod nach 2 Tagen.

Maus Nr. 4.

Snbkutane Injektion von 0,1 ccm nngefärbter, 3 Stunden exponierter Bouiilon.

Tod nach 2 Tagen.

Maus Nr. 5.

Subkutane Injektion von 0,1 ccm mit Eosin gefärbter, 3 Stunden exponierter Bonillon.

Bleibt am Leben.

Maus Nr. 6.

Subkutane Injektion von 0,1 ccm mit Erythrosin gefärbter, 3 Stunden exponierter Bonillon.

Bleibt am Leben.

Bei allen gestorbenen Mäusen werden durch Überimpfung des Herzblutes auf Schrägagar nnd mikroskopische Untersuchnng Streptokokken nachgewiesen.

b) Exposition unter Rubinglaskasten.

13. II. Streptokokkenbouillon wird ungefärbt, mit Eosin bzw. Erythrosin gefärbt 7 und 14 Stunden unter Rubinglaskasten exponiert.

Lichtverhältnisse: Sonne, zeitweise trübe.

14. II. Tierversuch abends 4 Uhr.

Maus Nr. 7.

Subkutane Injektion von 0,1 ccm ungefärbter nicht exponierter Bouillon-Kontroll.

Tod nach 1 Tag.

Maus Nr. 8.

Subkutane Injektion von 0,1 ccm ungefärbter Bouillon, 14 Stunden unter Rubinglaskasten exponiert.

Tod nach $1^1/_2$ Tag.

Maus Nr. 9.

Subkutane Injektion von 0,1 ccm mit Eosin gefärbter Bouillon, 14 Stunden unter Rubinglaskasten exponiert.

Tod nach 1 Tag.

Maus Nr. 10.

Subkutane Injektion von 0,1 ccm Bouillon, mit Erythrosin gefärbt, 14 Stunden unter Rubinglaskasten exponiert.

Tod nach $1^1/_2$ Tagen.

Bei allen gestorbenen Mäusen werden kulturell im Herzblut Streptokokken nachgewiesen.

Das Wachstum auf Agar ergab folgende Resultate:

**Versuch a.**

| Dauer d. Exposition | $1^1/_2$ Stunden | | 3 Stunden | |
|---|---|---|---|---|
| Wachstum am . . | 1. Tag | 2. Tag | 1. Tag | 2. Tag |
| Bouillon ungefärbt . | +++ | +++ | +++ | +++ |
| Bouillon mit Eosin gefärbt . . . . | ++ | ++ | + | + |
| Bouillon mit Erythrosin gefärbt . . . | L | L | L | L |

| Dauer der Exposition . | $4^1/_2$ Stunden | | 6 Stunden | | Kontroll | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Wachstum am . . . . | 1. Tag | 2. Tag | 1. Tag | 2. Tag | 1. Tag | 2. Tag |
| Bouillon ungefärbt . . | ++ | ++ | L | + | +++ | +++ |
| Bouillon mit Eosin gefärbt . . . . . | + | + | L | L | +++ | +++ |
| Bouillon mit Erythrosin gefärbt . . . . . | 0 | L | 0 | L | +++ | +++ |

**Versuch b.**

| Dauer der Exposition . | 7 Stunden | | 14 Stunden | | Kontroll | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Wachstum am . . . . | 1. Tag | 2. Tag | 1. Tag | 2. Tag | 1. Tag | 2. Tag |
| Bouillon ungefärbt . . | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| Bouillon mit Eosin gefärbt . . . . . | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| Bouillon mit Erythrosin gefärbt . . . . . | ++ | ++ | L | L | ++ | ++ |

c) Prüfung der Virulenz von exponierten Streptokokkenkulturen.

Diese Versuche wurden unternommen, um festzustellen, ob ein Streptokokkus, welcher nach Exposition am Lichte Tiere nicht mehr tötete, obschon die Kulturen noch Wachstum ergaben, dauernd abgeschwächt ist.

**1. Versuch.**

12. V. Streptokokkenbouillon wird ungefärbt, mit Eosin resp. Erythrosin gefärbt dunkel und am Lichte 2, 4 und 6 Stunden exponiert.

Die Exposition wird, um die Verdunstung der Kulturen bei der ziemlich intensiven Sonne zu vermeiden, statt in Doppelschälchen wie gewöhnlich in Reagenzröhrchen vorgenommen, wo die Wirkung des Lichtes weniger deutlich ist.

Lichtverhältnisse: Sonne.

13. V. Tierversuch mittags 11 Uhr.

Maus Nr. 1.

Subkutane Injektion von 0,1 ccm mit Erythrosin gefärbter, nicht exponierter Bouillon-Kontroll.

Tod nach 2 Tagen.

Maus Nr. 2.

Subkutane Injektion von 0,1 ccm mit ungefärbter, 6 Stunden exponierter Bouillon.

Tod nach 4 Tagen.

Maus Nr. 3.

Subkutane Injektion von 0,1 mit Eosin gefärbter, 6 Stunden exponierter Bouillon.

Bleibt am Leben.

Maus Nr. 4.

Subkutane Injektion von 0,1 ccm mit Erythrosin gefärbter, 6 Stunden exponierter Bouillon.

Bleibt am Leben.

Bei den gestorbenen Mäusen werden durch Sektion und kulturellen Versuch im Herzblute Streptokokken nachgewiesen.

Das Wachstum auf Agar ergab folgendes Resultat:

| Dauer d. Exposition | 2 Stunden | | 4 Stunden | | 6 Stunden | | Kontroll | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Wachstum am . . | 1. Tag | 2. Tag | 1. Tag | 2. Tag | 1. Tag | 2. Tag | 1. Tag | 2. Tag |
| Bouillon ungefärbt | ++ | ++ | ++ | ++ | + | + | | |
| Bouillon mit Eosin gefärbt . . . . | ++ | ++ | + | ++ | L | + | | |
| Bouillon mit Erythrosin gefärbt . | ++ | ++ | L | + | 0 | 0 | +++ | +++ |

**2. Versuch.**

15. V. Die von den 6 Stunden exponiert gewesenen Streptokokken kulturen aus Versuch 1, welche für die damit injizierten Mäuse nicht mehr oder abgeschwächt virulent waren, angelegten Agarkulturen werden zur Weiterzüchtung auf Bouillon überimpft. Die von der ungefärbten und von der mit Eosin gefärbten exponierten Kultur herrührende Bouillon ist stark getrübt, die von der mit Erythrosin gefärbten exponierten Kultur herrührende zeigt kein Wachstum.

15. V. Tierversuch mittags 2 Uhr.

Maus Nr. 1.

Subkutane Injektion von 0,1 ccm Bouillon, herrührend von ungefärbt exponiert gewesener Streptokokkenkultur.

Tod nach 2 Tagen.

Maus Nr. 2.

Subkutane Injektion von 0,1 ccm Bouillon, herrührend von mit Eosin gefärbt exponiert gewesenen Streptokokkenkultur.

Tod nach 2 Tagen.

Bei den gestorbenen Mäusen werden durch kulturellen Versuch im Herzblut Streptokokken nachgewiesen.

Resümee. Der Zusatz von sensibilisierenden Farbstoffen hat nicht nur auf das Wachstum, sondern auch auf die Virulenz der pathogenen Mikroorganismen einen sehr deutlichen Einfluss. Es stellte sich heraus, dass sehr virulente Streptokokkenkulturen, welche in Mengen von 0,0001 ccm Mäuse eben noch sicher töteten, selbst in einer Menge von 0,1 ccm nicht mehr den Tod der Versuchstiere hervorrufen, wenn sie, mit Eosin oder mit Erythrosin vermengt, 3—4 Stunden lang am Tageslicht exponiert wurden, während die ungefärbte exponierte Kultur in der Menge von 0,1 ccm, ähnlich wie die nicht exponierte, ungefärbt und gefärbte wirkte, also rasch den Tod der Tiere herbei-

führte. Ähnliches ergaben die Versuche mit Diphtheriebazillen an Meerschweinchen. Während eine Bouillonaufschwemmung einer Serumkultur, in der Menge von 2,0 ccm ungefärbt dem Lichte 4 Stunden exponiert, das Tier innerhalb 2 Tagen tötete, wirkte die exponierte Kultur nicht mehr tödtlich, wenn sie vorher mit Eosin oder Erythrosin versetzt worden war.

Bei den Versuchen unter dem Rubinglaskasten konnte konstatiert werden, dafs die durch rotes Glas filtrierten Lichtstrahlen die Virulenz von Bakterien ebenso wenig abzuschwächen vermögen als ihre Entwicklungsfähigkeit und zwar selbst bei tagelanger Exposition.

Wie dies schon von anderen Autoren beobachtet worden ist, haben auch unsere Versuche ergeben, dafs die Abschwächung bzw. das Verlorengehen der Virulenz früher eintritt als die völlige Abtötung der Bakterien. Einzelne exponierte, sensibilisierte Kulturen ergaben noch Wachstum, währenddem die injizierten Tiere am Leben blieben; immerhin beweisen die angeführten Resultate, dafs Wachstumshemmung und Virulenzabnahme Hand in Hand gehen.

Sehr interessant ist auch das Resultat des letzten Versuches, dafs nämlich durch Weiterzüchtung einer exponierten Kultur von virulenten Streptokokken, welche die damit injizierte Maus nicht mehr getötet hatte, eine Kultur erhalten wurde, die sich wieder als voll virulent erwies; wir konnten also eine dauernde Abschwächung in diesem einen Versuche nicht nachweisen.

---

## Zweiter Abschnitt.

### Wirkung des Lichtes auf Toxine und Antitoxine.

Kitasato [16] hat in seinen experimentellen Untersuchungen über Tetanusgift die Einwirkung des Lichtes auf dasselbe durch zahlreiche Tierversuche genau geprüft. Er fand, dafs das Filtrat einer Bouillonkultur von Tetanusbazillen durch Aufstellen am Fenster bei zerstreutem Tageslichte allmählich seine Wirksamkeit verlor; es dauerte aber lange Zeit, bis die Giftwirkung vollständig

verschwand. Durch Aufstellen direkt an Sonnenlicht verlor das Tetanusgift erst nach 15—18 Stunden vollständig seine Wirksamkeit.

Das Diphtheriegift erwies sich atmosphärischen Einflüssen, also auch dem Lichte gegenüber, widerstandsfähiger.

Tizzoni und Cattani [17] fanden ebenfalls, dafs Sonnenlicht imstande ist, das Tetanustoxin bald unwirksam zu machen, namentlich wenn der Zutritt des Sauerstoffes der Luft leicht möglich war.

Auch Fermi und Celli [18] konstatierten, dafs das Tetanusgift, dem direkten Sonnenlichte ausgesetzt, wobei die Temperatur zwischen 40—50° schwankte, nach 8 Stunden zerstört wurde. Bei einer Temperatur von nicht mehr als 37° blieb das Gift, an der Sonne exponiert, 15 Stunden lang wirksam.

Tappeiner und Jodlbauer [19] haben die Wirkung des Lichtes auf mit fluoreszierenden Stoffen gefärbtes Diphtherietoxin und Tetanustoxin geprüft. Bezüglich der Versuche mit Diphtherietoxin schreibt Tappeiner: »Man sieht, dafs der Zusatz von Eosin im Dunkeln auf das Toxin nicht ganz ohne Einflufs war, in gleicher Weise wie der Zutritt des Lichtes im Glas ohne Eosin. Die Schädigung ist indes in beiden Fällen unbedeutend, nur bei der einfachen und doppelten letalen Dosis in Form einer Verzögerung des letalen Ausganges von $^1/_2$—1 Tag bemerkbar. Wahrhaft erstaunlich aber ist die Wirkung auf das Toxin durch Eosin am Lichte. Sämtliche Tiere bis inklusive den mit der 120fachen Dosis letalis injizierten blieben vollkommen normal.«

Die 1—10fache dosis letalis des Tetanustoxins wird ertragen bis auf lokalen Tetanus, die 25fache Dosis ist letal.

Eine mit Tetanusantitoxin durchgeführte gröfsere Versuchsreihe ergab eine analoge Wirkung auf Antitoxine.

Schon früher hatte Tappeiner [20] gezeigt, dafs Rizin, in Lösung mit etwas Eosin, 14 Stunden zerstreutem Tageslicht ausgesetzt, sein charakteristisches Agglutinationsvermögen für rote Blutkörperchen vollkommen verloren hatte, während eine ebenso lang exponierte, einfache Rizinlösung und eine mit Eosin versetzte, im Dunkeln aufbewahrte Lösung unverändert wirksam waren.

In den folgenden Versuchen wurde Diphtherietoxin und Antitoxin, das wir der Freundlichkeit des Berner Seruminstitutes verdanken, benutzt, ferner Tetanustoxin und Antitoxin, das wir von den Höchster Farbwerken bezogen.

Das Diphtherietoxin, ohne und mit Zusatz von Antitoxin, wurde Meerschweinchen von durchschnittlich 150—200 g Gewicht subkutan am Bauche injiziert. Da die Wertigkeit der Präparate nicht angegeben war, wurde dieselbe experimentell festgestellt und dabei gefunden, dafs 0,05 ccm Toxin den Tod der Versuchstiere in ca. 48 Stunden herbeiführte. Wurde 0,5 ccm Toxin einer Menge von 0,005 ccm Antitoxin beigefügt, das Gemisch ca. 1 Stunde lang aufbewahrt und dann injiziert, blieben die Tiere am Leben; bekamen sie in gleicher Weise 0,5 ccm Toxin und 0,001 ccm Antitoxin, starben sie nach ca. 48 Stunden.

Die Wertigkeit des Höchster Tetanustoxin war angegeben für 1,0 g festes Toxin = 150000000+Ms, die des flüssigen Tetanusantitoxins war diejenige eines fünffachen Normalserums, also sollte 0,1 ccm Antitoxin 0,15 g Toxin neutralisieren. In unseren Versuchen waren wir genötigt, mit ziemlich höheren Dosen von Toxin und etwas kleineren von Antitoxin zu arbeiten.

Die Wirksamkeit des Tetanustoxins wurde an Mäusen und Meerschweinchen erprobt und dabei gefunden, dafs bei Mäusen 0,0000125 ccm Toxin innerhalb zweimal 24 Stunden den Tod an Tetanus herbeiführte, bei Meerschweinchen 0,00025 ccm innerhalb 36 Stunden. Eine mit 0,00125 ccm Toxin + 0,001 ccm Antitoxin injizierte Maus starb nach ca. 18 Stunden, eine mit einem gleich wie oben hergestellten Gemenge von 0,001 ccm Toxin + 0,0005 ccm Antitoxin injizierte blieb am Leben.

Die zu injizierenden Mengen wurden durch Verdünnen des Diphtherietoxins und Serums mit steriler Bouillon, die des Tetanustoxins und Serums durch Auflösen, resp. Verdünnen mit sterilem Wasser hergestellt. Die Toxine und Antitoxine wurden im Freien exponiert und zwar teils ungefärbt, teils mit Eosin 1‰ gefärbt, daneben wurden immer Kontrollösungen direkt exponiert. Die Exposition fand teils in bedeckten, gewöhnlich in unbedeckten Glasschälchen statt.

Die Versuche wurden immer mit sehr grofsen Mengen Toxin, bzw. Toxin und Antitoxin ausgeführt behufs Erlangung unzweideutiger Resultate.

## I. Exposition von Toxinen am Tageslichte.

### 1. Versuch mit Diphtherietoxin.

27. IV. Diphtherietoxin wird ungefärbt und mit Eosin gefärbt dunkel und am Tageslichte in bedeckten und offenen Doppelschälchen 4 Stunden exponiert.

Lichtverhältnisse: 2 Stunden Sonne, 2 Stden trüb.

Tierversuch. Abends 4 Uhr.

Meerschweinchen Nr. 1.

Subkutane Injektion von 0,05 ccm Diphtherietoxin, ungefärbt, nicht exponiert.

Tod nach 2 Tagen.

Meerschweinchen Nr. 2.

Subkutane Injektion von 0,05 ccm Diphtherietoxin, mit Eosin gefärbt nicht exponiert.

Tod nach 2 Tagen.

Meerschweinchen Nr. 3.

Subkutane Injektion von 0,05 ccm Diphtherietoxin, ungefärbt, in bedeckter Schale exponiert.

Tod nach 2 Tagen.

Meerschweinchen Nr. 4.

Subkutane Injektion von 0,05 ccm Diphtherietoxin, mit Eosin gefärbt, in bedeckter Schale exponiert.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen Nr. 5.

Subkutane Injektion von 0,05 ccm Diphtherietoxin, ungefärbt, in offener Schale exponiert.

Tod nach 2 Tagen.

Meerschweinchen Nr. 6.

Subkutane Injektion von 0,05 ccm Diphtherietoxin, mit Eosin gefärbt, in offener Schale exponiert.

Bleibt am Leben.

Bei allen gestorbenen Tieren werden bei der Sektion die für Diphtherie typischen Veränderungen gefunden.

### 2. Versuch mit Tetanustoxin.

3. V. Tetannstoxin wird nngefärbt und mit Eosin gefärbt dnnkel und am Tageslicbte 4 Stunden exponiert.

Lichtverhältnisse: Sonne, zeitweise trüb.

Tierversuch abends 4 Uhr.

Meerschweinchen Nr. 1.

Subkntane Injektion von 0,00025 ccm Tetanustoxin, ungefärbt, nicht exponiert.

Tod nach 2 Tagen.

Meerschweinchen Nr. 2.

Snbkutane Injektion von 0,00025 ccm Tetanustoxin, mit Eosin gefärbt, nicbt exponiert.

Tod nach 2 Tagen.

Meerschweincben Nr. 3.

Snbkntane Injektion von 0,00025 ccm Tetanustoxin, ungefärbt, exponiert.

Tod nacb 2 Tagen.

Meerscbweinchen Nr. 4.

Subkutane Injektion von 0,00025 ccm Tetanustoxin, mit Eosin gefärbt, exponiert.

Bleibt am Leben.

Der Tod aller drei gestorbenen Tiere trat unter dentlicb tetaniscben Symptomen ein.

## II. Exposition von Antitoxinen am Tageslichte.

### 3. Versnch mit Diphtherieantitoxin.

10. V. Dipbtberieantitoxin wird ungefärbt nnd mit Eosin gefärbt dnnkel nnd am Tageslicbte 4 Stunden exponiert. Das exponierte Antitoxin wird im Dunkeln anfbewahrt gewesenem Dipbtberietoxin beigemischt, ca. 1 Stnnde stehen gelassen nnd dann injiziert.

Licbtverhältnisse: Sonne.

Tierversuch abends 5½ Uhr.

Meerscbweincben Nr. 1.

Subkutane Injektion von 0,0025 ccm Antitoxin, nngefärht, nicbt exponiert + 0,25 ccm Toxin.

Bleibt am Leben.

Meerschweincben Nr. 2.

Snbkutane Injektion von 0,0025 ccm Antitoxin, mit Eosin gefärbt, nicht exponiert + 0,25 ccm Toxin.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen Nr. 3.

Subkutane Injektion von 0,0025 ccm Antitoxin, ungefärbt, exponiert + 0,25 ccm Toxin.

Tod nach 2 Tagen.

Meerschweinchen Nr. 4.

Subkutane Injektion von 0,0025 ccm Antitoxin, mit Eosin gefärbt, exponiert + 0,25 ccm Toxin.

Tod nach 2 Tagen.

Die Krankheitssymptome traten bei diesem Tiere etwas früher ein als bei Nr. 3.

Die Sektion der gestorbenen Tiere ergibt die für Diphtherie typischen Veränderungen.

**4. Versuch mit Tetanusantitoxin.**

10. V. Tetanusantitoxin wird ungefärbt und mit Eosin gefärbt dunkel und am Tageslichte 4 Stunden exponiert. Das exponierte Antitoxin wird mit im Dunkeln aufbewahrt gewesenem Tetanustoxin vermischt, ca. 1 Stunde stehen gelassen und dann injiziert.

Lichtverhältnisse: Sonne.

Tierversuch abends 5 Uhr.

Maus Nr. 1.

Subkutane Injektion von 0,0005 ccm Antitoxin, ungefärbt, nicht exponiert + 0,001 ccm Toxin.

Bleibt am Leben.

Maus Nr. 2.

Subkutane Injektion von 0,0005 ccm Antitoxin, mit Eosin gefärbt, nicht exponiert + 0,001 ccm Toxin.

Bleibt am Leben.

Maus Nr. 3.

Subkutane Injektion von 0,0005 ccm Antitoxin, nicht gefärbt, exponiert + 0,001 ccm Toxin.

Bleibt am Leben.

Die Maus zeigt die ersten Tage nach der Injektion leichte tetanische Symptome.

Maus Nr. 4.

Subkutane Injektion von 0,0005 ccm Antitoxin, mit Eosin gefärbt, exponiert + 0,001 ccm Toxin.

Tod nach 3 Tagen.

Der Tod des gestorbenen Tieres erfolgte unter deutlichen Erscheinungen von Tetanus.

## III. Exposition von Antitoxinen am Tageslichte und unter Rubinglaskasten.

**5. Versuch mit Diphtherieantitoxin.**

17. V. Exposition von Diphtherieantitoxin, ungefärbt und mit Eosin gefärbt unter Rubinglaskasten und am Tageslichte 4 Stunden. Dem exponierten Antitoxin wird nicht exponiertes Diphtherietoxin zugefügt, die Mischung ca. 1 Stunde stehen gelassen und dann injiziert.

Lichtverhältnisse: Soune.

Tierversuch abends 4 Uhr.

Meerschweiuchen Nr. 1.

Subkutane Injektiou vou 0,0025 ccm Antitoxiu, uugefärbt, unter Rubiuglaskasten exponiert + 0,25 ccm Toxin.

Bleibt am Leben.

Meerschweinchen Nr. 2.

Snbkutane Iujektion vou 0,0025 ccm Antitoxiu mit Eosin gefärbt, unter Rubiuglaskasten expouiert + 0,25 ccm Toxin.

Bleibt am Leben.

Meerschweincbeu Nr. 3.

Subkutane Injektion vou 0,0025 ccm Autitoxin, uugefärbt, direkt exponiert + 0,25 ccm Toxin.

Tod nach 2 Tageu.

Meerscbweiuchen Nr. 4.

Snbkutaue Injektion von 0,0025 ccm Autitoxiu, mit Eosiu gefärbt, direkt expouiert + 0,25 ccm Toxin.

Tod nach 2 Tagen.

Die Sektion der gestorbenen Tiere ergab die für Dipbtherie typischen Veräuderungen.

### 6. Versuch mit Tetanusantitoxiu.

14. V. Expositlon von Tetanusantitoxin, ungefärbt uud mit Eosiu gefärbt, unter Rubiuglaskasten und am Tageslicht 4 Stuuden. Das expouiert geweseue Antitoxiu wird vermischt mit uicht exponiertem Tetauustoxin, ca. 1 Stuude stebeu gelassen uud danu injiziert.

Lichtverhältnisse: Sonue.

Tierversuch abeuds 4½ Uhr.

Maus Nr. 1.

Subkutaue Injektion vou 0,0005 ccm Antitoxin, nicht gefärbt, uuter Rubinglaskasteu expouiert + 0,00125 ccm Toxiu.

Bleibt am Lebeu.

Maus Nr. 2.

Subkutane Injektion vou 0,0005 ccm Antitoxiu, mit Eosin gefärbt, unter Rubinglaskaston exponiert + 0,00125 ccm Toxiu.

Bleibt am Leben.

Maus Nr. 3.

Subkutane Injektiou vou 0,0005 ccm Autitoxiu, ungefärbt, direkt exponiert + 0,00125 ccm Toxiu.

Bleibt am Lebeu.

Maus Nr. 4.

Subkutane Injektion vou 0,0005 ccm Antitoxiu, mit Eosin gefärbt, direkt exponiert + 0,00125 ccm Toxin.

Tod uach 1½ Tageu.

Der Tod der Maus erfolgte unter deutlicheu tetaniscbeu Symptomeu.

Resümee. Aus den mitgeteilten Versuchen erhellt, dafs die Wirksamkeit von Diphtherie- und Tetanustoxin durch eine Exposition am Tageslichte von 4 Stunden herabgesetzt wird und dafs diese Einwirkung besonders an dem mit Eosin gefärbten Toxin gegenüber dem nicht gefärbten zutage tritt, so dafs eine für das betreffende Tier mindestens 100fach letale Dosis nicht mehr tödlich wirkt, sondern höchstens noch vorübergehende Vergiftungssymptome bewirkt, wie dies an den mit Tetanus injizierten Tieren etwa beobachtet wurde.

Auch auf die Diphtherie- und Tetanusantitoxine war deutlich der schädigende Einflufs des Lichtes mit und ohne Zusatz eines sensibilisierenden Farbstoffes zu erkennen, indem die mit nicht exponiertem Antitoxin plus Toxin injizierten Tiere nicht erkrankten und am Leben blieben, während das exponierte Antitoxin unter denselben Bedingungen eine Neutralisierung des Toxins nicht mehr herbeizuführen im stande war.

Im Gegensatz hierzu vermochte das unter dem Rubinglaskasten exponierte Diphtherie- und Tetanusantitoxin die Wirkung seines entsprechenden Giftes vollständig zu neutralisieren.

## IV. Einwirkung des Lichtes auf die hämolytische Wirkung von Tetanustoxin.

Madsen [21] hat interessante Versuche angestellt über die schädigende Wirkung des Tetanustoxins, bzw. des Tetanolysius auf rote Blutkörperchen, wobei er fand, dafs diese schädigende Wirkung durch Tetanusantitoxin unter gewissen Versuchsbedingungen aufgehoben wurde. Unsere Versuche bezweckten nun, nachdem die zerstörende Beeinflussung des Tetanustoxins und Antitoxins am Lichte an Tierexperimenten konstatiert war, diese Lichtwirkung auch noch an hämolytischen Versuchen zu erproben.

### 1. Versuch.

15. V. Tetanustoxin, ungefärbt und mit Eosin 1 ‰ gefärbt, ebenso Antitoxin, werden teils an der Sonne 4 Stunden, teils dunkel exponiert.

Tetanusantitoxin wird direkt einem halben ccm einer ca. 5proz. Kaninchenblut-Aufschwemmung beigefügt und dann Toxin zugesetzt, so dafs zuerst

Antitoxin mit dem Blute ca. 12 Stunden im Kontakt gelassen, nachher mit physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschen und dann das Toxin beigegeben wird.

Es bedeutet:

+++ starke Hämolyse,
++ mittelstarke »
+ schwache »
0 keine »

Das Resultat war nach 12 Stunden folgendes:

| | |
|---|---|
| Blutlösung mit 0,01 ccm Tetanustoxin nicht exponiert . . . | +++ |
| » » 0,01 » » + Eosin nicht exp. . | +++ |
| » » 0,01 » » exponiert . . . . . | ++ |
| » » 0,01 » » + Eosin exponiert . . | + |
| » » 0,1 » Tetanusantitoxin nicht exponiert | |
| + 0,01 » Tetanustoxin . . . . . | 0 |
| » mit 0,1 » Tetanusantitoxin n. Eosin nicht exp. | |
| + 0,01 » Tetanustoxin . . . . . | 0 |
| » mit 0,1 » Tetanusantitoxin exponiert | |
| + 0,01 » Tetanustoxin . . . . . | + |
| » mit + 0,1 » Tetanusantitoxin + Eosin exponiert | |
| + 0,01 » Tetanustoxin . . . . . | ++ |
| » Kontroll nicht exponiert . . . . . | 0 |
| » + Eosin » » . . . . . | 0 |
| » mit Antitoxin 0,1 ccm Kontroll . . . . . | 0 |
| » » » 0,1 » + Eosin exponiert . | 0 |

### 2. Versuch.

17. II. Die 4 Stunden am Sonnenlicht exponiert gewesenen Lösungen werden heute noch 2 Stunden bei wenig Sonne exponiert, der Versuch dann in gleicher Weise wiederholt.

Die Resultate nach 12 Stunden waren folgende:

| | |
|---|---|
| Blutlösung mit 0,01 ccm Tetanustoxin nicht exponiert . . . | +++ |
| » » 0,01 » » + Eosin nicht exp. . | +++ |
| » » 0,01 » » exponiert . . . . . | ++ |
| » » 0,01 » » + Eosin exponiert . . | + |
| » » 0,1 » Tetanusantitoxin nicht exponiert | |
| + 0,01 » Toxin . . . . . | 0 |
| » mit 0,1 » Tetanusantitoxin + Eosin nicht exp. | |
| + 0,01 » Toxin . . . . . | 0 |
| » mit 0,1 » Tetanusantitoxin exponiert | |
| + 0,01 » Toxin . . . . . | + |
| » mit 0,1 » Tetanusantitoxin + Eosin exponiert | |
| + 0,01 » Toxin . . . . . | ++ |

Resümee. Die wenigen hier angeführten Versuche ergeben, dafs die hämolytischen, bzw. antihämolytischen Eigenschaften des Tatanustoxins und Antitoxins durch Exposition am Lichte ähnlich beeinflufst werden wie die rein toxischen bzw. antitoxischen Eigenschaften. Die Wirksamkeit der betreffenden Lösungen wird auch hier bei Zusatz von sensibilisierenden Farbstoffen viel stärker abgeschwächt.

## Dritter Abschnitt.

### Wirkung des Lichtes auf das Labferment.

Von verschiedenen Seiten wurde die Lichtwirkung auf Enzyme untersucht und zwar machten schon Downes und Blunt[22] Versuche mit Invertinlösungen, welche längere Zeit dem Sonnenlichte ausgesetzt waren. Dieselben zeigten nachher eine erheblich geringere Fähigkeit, Rohrzucker in Traubenzucker umzuwandeln, als die im Dunkeln aufbewahrten Kontrollproben.

Fermi und Pernoni[23] glaubten ebenfalls in ihren Untersuchungen gefunden zu haben, dafs Lösungen von Pepsin und Trypsin im Sonnenlicht mehr abgeschwächt werden als beim Aufbewahren im Dunkeln.

Eine sichere Wirkung des Sonnenlichtes auf Chymosin (Lab) und Maltase (Hefenextrakt) beobachtete Emmerling.[24]

Tappeiner[20] veröffentlichte 1903 und in Gemeinschaft mit Jodlbauer[28] 1904 interessante Mitteilungen über die Wirkung des Sonnenlichtes auf Enzyme bei Anwesenheit fluoreszierender Stoffe. Er fand regelmäfsig, dafs Eosin die Verzuckerung der Stärke in bedeutendem Mafse hemmte, wenn die betreffende Lösung von Diastase dem gewöhnlichen Tageslicht ausgesetzt war.

Im Dunkeln war das Eosin ohne jede Einwirkung, ebenso war Tageslicht für sich allein ohne Einflufs. Die Wirkung trat nicht ein bei Filtration der Lichtstrahlen, indem man das zutretende Licht vorher eine Lösung des im Versuch stehenden fluoreszierenden Stoffes von 10 cm Schichtdicke passieren läfst.

Das zweite untersuchte Enzym war das Invertin, das sich ähnlich wie Diastase verhält. Auch die Wirkung des eiweifsverdauenden Papayotin wurde durch Eosin im Lichte gehemmt.

Schmidt-Nielsen[26] benutzte zu seinen Versuchen mit Chymosin das konzentrierte, elektrische Bogenlicht; die Belichtung geschah in Quarzkammern. Er hatte nämlich gefunden, dafs das Sonnenlicht und das nicht konzentrierte Licht von elektrischen Bogenlampen nur von schwacher Wirkung auf Enzyme war, ferner dafs die wirksamen ultravioletten Strahlen nicht durchdrangen, wenn eine klare Glasplatte vor die Versuchskammer eingeschoben wurde. Das Chymosin büfste durch Belichtung mit konzentriertem, elektrischem Bogenlichte an Wirksamkeit ein, Versuche mit Erythrosin und Belichtung in der Quarzkammer mit durch Glasfilter filtriertem, konzentriertem Lichte waren negativ.

Zu unseren Versuchen wurde ebenfalls das leicht erhältliche Labferment (Chymosin) benutzt. Dasselbe eignete sich für die Versuche auch deshalb besonders, weil man in der Zeit des Eintreffens der Gerinnung von damit versetzter Milch unter den gewöhnlichen Versuchsanordnungen ziemlich genaue Werte bekam. Es wurde zu den beschriebenen Versuchen eine 1 proz. Lablösung benutzt, welche mittels Auflösen einer käuflichen Labtablette in 100 ccm gewöhnlichen Wassers erhalten wurde. Da die Lösung nicht haltbar ist, wurde zu jedem Versuche eine frische Lösung hergestellt.

Diese Lablösung wurde nun in Reagenzröhrchen teils direkt, teils mit einer 1‰ Eosin- resp. Erythrosinlösung versetzt, im Freien exponiert. Ebenso wurden die betreffenden Lösungen in Reagenzröhrchen mit schwarzem Papier umhüllt, also unter Lichtabschlufs zu Kontrollversuchen exponiert.

Für die Prüfung der Gerinnungsfähigkeit dieser Lablösungen wurden dieselben frischer, ungekochter Milch beigefügt und zwar 1 ccm Lablösung auf 100 ccm Milch.

In einigen Versuchen wurde auch Milch der Einwirkung des Lichtes ausgesetzt und nachher mit exponierten und nicht

exponierten Lablösungen die Gerinnungsfähigkeit derselben untersucht. Die Milch wurde dazu in grofsen Doppelschalen ungefärbt und mit 1‰ Eosin- bzw. Erythrosinlösung versetzt exponiert. Die Prüfung der Milchgerinnung durch Lab wurde teils im Schäfferschen, teils in einem nach diesem konstruierten gröfseren Apparate, einem viereckigen Blechkasten mit 20 Öffnungen für Bechergläser bei einer Temperatur von etwa 37 °C vorgenommen.

Es wurde bestimmt, innerhalb welcher Zeit bei den verschiedenen Gemischen eine deutliche Gerinnung der Milch eintrat und diese Zeit in Minuten notiert.

## I. Versuche mit Lab und Milch ohne und mit Zusatz von Eosin.

100 ccm Milch werden mit 1 ccm Lablösung vermengt; die Zahlen geben die Minuten an, welche zwischen Labzusatz und Gerinnung verstreichen. In den folgenden Tabellen wird die Vorbehandlung von Milch und von Lab (exponiert, nicht exponiert; ungefärbt, mit Eosin gefärbt) mitgeteilt.

18. I. Lab, ungefärbt und mit Eosin gefärbt, Milch ungefärbt und mit Eosin gefärbt, werden dunkel und am Lichte 6 Stunden exponiert.

Lichtverhältnisse: trüb, keine Sonne.

| Milch | Lab | Lab exponiert | Lab nicht expon. (Kontroll) |
|---|---|---|---|
| 1. nicht exponiert<br>ungefärbt | ungefärbt . . . . | 6 | 6 |
| | mit Eosin gefärbt . | 8 | 8 |
| 2. nicht exponiert<br>mit Eosin gefärbt | ungefärbt . . . . | 16 | 12 |
| | mit Eosin gefärbt . | 20 | 16 |
| 3. exponiert<br>ungefärbt | ungefärbt . . . . | 18 | 12 |
| | mit Eosin gefärbt . | 26 | 24 |
| 4. exponiert<br>mit Eosin gefärbt | ungefärbt . . . . | 55 | 55 |
| | mit Eosin gefärbt . | 120 | 65 |

## II. Versuche mit Lab und Milch, ungefärbt und mit Zusatz von Erythrosin.

19. I. Lab, ungefärbt und mit Erythrosin gefärbt, Milch ungefärbt nnd mit Erythrosin gefärbt, werden dunkel und am Lichte 6 Stunden exponiert.
Lichtverhältnisse: trübe, keine Sonne.

| Milch | Lab | Lab exponiert | Lab nicht expon. (Kontroll) |
|---|---|---|---|
| 1. nicht exponiert<br>nngefärbt | ungefärbt . . . .<br>mit Erythrosin gef. | 8<br>65 | 8<br>10 |
| 2. nicht exponiert<br>mit Erythr. gefärbt | ungefärbt . . . .<br>mit Erythrosin gef. | 15<br>nach 100 Min. keine Gerinnung | 15<br>20 |
| 3. exponiert<br>ungefärbt | ungefärbt . . . .<br>mit Erythrosin gef. | 18<br>70 | 18<br>30 |
| 4. exponiert<br>mit Erythr. gefärbt | nngefärbt . . . .<br>mit Erythrosin gef. | 80<br>nach 140 Min. keine Gerinnung | 70<br>110 |

## III. Vergleichende Versuche mit getrennt und mit gemeinsam exponierten Lab- und Farbstofflösungen.

26. I. Exposition von 1 °/₀₀ Lablösnng, 1 °/₀₀ Eosinlösung getrennt und 1 °/₀₀ Lablösung gemeinsam mit 1 °/₀₀ Eosinlösnng dunkel und 4 Stunden am Tageslichte.
Lichtverhältnisse: Sonne, zeitweise trübe.

| Milch | Lab | Lab exponiert | Lab nicht expon. (Kontroll) |
|---|---|---|---|
| nicht exponiert ungefärbt | nngefärbt . . . . | 14 | 12 |
| | mit Eosin gefärbt getrennt exponiert | 12 | 12 |
| | mit Eosin gefärbt zusammen exponiert | 120 | 15 |

20. I. Exposition von 1 °/₀ Lablösung, 1 °/₀₀ Erythrosinlösung, getrennt nnd 1 °/₀ Lablösung gemeinsam mit 1 °/₀ Erythrosinlösung dunkel und am Tageslichte 6 Stunden.

Lichtverhältnisse: trüb, keine Sonne.

| Milch | Lab | Lab exponiert | Lab nicht expon. (Kontroll) |
|---|---|---|---|
| nicht exponiert ungefärbt | ungefärbt . . . . . | 12 | 12 |
| | mit Erythrosin gefärbt getrennt exponiert | 16 | 15 |
| | mit Erythrosin gefärbt zusammen exponiert | 75 | 18 |

## IV. Versuch mit 12 Stunden aufbewahrter Lablösung.

21. I. Die am 20. I. 6 Stunden exponierten Lösungen werden über Nacht, ca. 12 Stunden, im Eisschrank aufbewahrt und heute nochmals auf ihre Wirksamkeit geprüft.

| Milch | Lab | Lab exponiert | Lab nicht expon. (Kontroll) |
|---|---|---|---|
| nicht exponiert ungefärbt | ungefärbt . . . . . | 14 | 12 |
| | mit Erythrosin gefärbt getrennt aufbewahrt | 18 | 15 |
| | mit Erythrosin gefärbt zusammen aufbewahrt | 100 | 22 |

## V. Versuche mit Exposition der Lablösungen bei Luftzutritt und Luftabschlufs.

3. II. Lab, ungefärbt und mit Eosin resp. Erythrosin gefärbt, wird teils in Reagenzröhrchen unter Luftzutritt, teils unter Luftabschlufs in geschlossenen Glaszylindern nach Absaugen der Luft 4 Stunden exponiert.

Lichtverhältnisse: Sonne, zeitweise trübe.

Nicht exponierte Milch wird versetzt mit:

| Lab | bei Luftzutritt exponiert | bei Luftabschl. exponiert | nicht exponiert |
|---|---|---|---|
| ungefärbt . . . . . | 10 | 10 | 10 |
| mit Eosin gefärbt . . | Nach 120 Min. keine Gerinnung | 120 | 12 |
| mit Erythrosin gefärbt | Nach 120 Min. keine Gerinnung | 120 | 20 |

6. II. Milch ungefärbt und mit Eosin resp. Erythrosin gefärbt, wird teils in offenen Glaszylindern unter Luftzutritt, teils unter Luftabschlufs in geschlossenen Glaszylindern nach Absaugen der Luft 4 Stunden exponiert.

Lichtverhältnisse: Sonne.

Nicht exponiertes Lab wird zugefügt:

| Milch | bei Luftzutritt exponiert | bei Luftabschl. exponiert | nicht exponiert |
|---|---|---|---|
| ungefärbt . . . . . | 18 | 15 | 12 |
| mit Eosin gefärbt . . | 60 | 35 | 30 |
| mit Erythrosin gefärbt | 60 | 35 | 30 |

## VI. Versuche unter der Eosin- resp. Erythrosinglocke.

30. I. Lab ungefärbt und mit Eosin bzw. Erythrosin gefärbt, werden teils unter der Eosin- resp. Erythrosinglocke, teils direkt am Tageslichte 3 Stunden exponiert.

Lichtverhältnisse: trüb, keine Sonne.

Nicht exponierte Milch wird versetzt mit:

| Lab | unter Eosin-Glocke exp. | unter Erythr.-Glocke exp | direkt exp. | nicht exp. |
|---|---|---|---|---|
| ungefärbt . . . . | 10 | 10 | 10 | 8 |
| mit Eosin gefärbt . | 15 | | 40 | 10 |
| mit Erytbrosin gef. | | 15 | 40 | 10 |

10. II. Wiederholung des obigen Versuches bei Exposition 4 Stunden am Sonnenlichte.

Nicht exponierte Milch wird versetzt mit:

| Lab | unter Eosin-Glocke exp. | unter Erythr.-Glocke exp. | direkt exp. | nicht exp. |
|---|---|---|---|---|
| ungefärbt . . . . | 12 | 14 | 14 | 10 |
| mit Eosin gefärbt . | Nach 120 Min. Gerinnung beg. | | Nach 120 Min. k. Gerinnung | 10 |
| mit Erythrosin gef. | | Nach 120 Min. Gerinnung beg | Nach 120 Min. k Gerinnung | 10 |

Resümee. Aus den mitgeteilten Versuchen ist ersichtlich, dafs die Wirksamkeit einer Lablösung durch Exposition am Lichte, namentlich bei Zusatz von sensibilisierenden Farbstoffen, bedeutend abgeschwächt wird. Während z. B. eine bestimmte Lablösung, im Dunkeln aufbewahrt, die Gerinnung der Milch nach 8—10 Minuten bewirkte, war die Wirksamkeit einer am Lichte exponierten, mit Eosin oder Erythrosin gefärbten Lösung unter denselben Bedingungen um eine bis mehrere Stunden verzögert. Der Unterschied zwischen nicht gefärbter und sensibilisierter Lösung war bei der Exposition auch hier sehr deutlich, noch gröfser als zwischen der

nicht exponierten und exponierten farblosen Lablösung, während zwischen der im Dunkeln aufbewahrten ungefärbten und der gefärbten Lösung nur eiu geringer Unterschied nachweisbar war.

Es wurde auch Milch der Einwirkung des Lichtes ausgesetzt, um festzustellen, ob die Gerinnungsfähigkeit derselben nach dem Lichteinflufs verändert wird. Auch hier stellte sich hieraus, dafs, währenddem die nicht exponierte gefärbte Milch ungefähr gleich rasch zur Gerinnung gebracht wurde als die nicht gefärbte, die mit Eosin resp. Erythrosin gefärbte Milch nach Exposition viel langsamer gerinnt als die sensibilisierte, nicht exponierte.

Weitere Versuche sollten feststellen, ob durch getrennte Exposition und nachherige Vermengung von Farbstoff und Lablösung der Einflufs ein ähnlicher war. Es stellte sich aber heraus, dafs die exponierte Eosinlösung auch hier nur dann wirkt, wenn sie schon während der Exposition mit dem Lab vermengt ist.

Wurde die exponierte Lablösung über Nacht aufbewahrt und erst etwa 12 Stunden nach der Exposition nochmals auf ihre Wirksamkeit geprüft, so waren die Resultate ähnlich lautend wie in den gleich nach der Exposition vorgenommenen Untersuchungen, so dafs eine nachträgliche Zunahme der Wirksamkeit einer abgeschwächten Lablösung nicht angenommen werden kann.

Der Einflufs des Luftzutrittes bei der Abschwächung der exponierten, sensibilisierten Lablösung war auch hier nachweisbar, obschon nicht so deutlich wie bei den früher beschriebenen bakteriziden Versuchen und bei denjenigen auf Virulenzschwächung.

Die Versuche unter der Eosin- und Erythrosinglocke ergaben, dafs ungefärbte Lablösungen, welche durch Eosin- oder Erythrosinlicht belichtet wurden, nicht stärker verändert werden als ungefärbte, dem direkten Lichte ausgesetzte Lösungen. Die unter Eosin- resp. Erythrosinglocke exponierten, sensibilisierten Lablösungen verhielten sich ungefähr wie die direkt exponierten gefärbten. Entsprechend der etwas schwächern Lichtintensität war auch hier die Abschwächung der Wirksamkeit eine etwas geringere.

---

Aus unseren Versuchen geht hervor, dafs das diffuse Tageslicht, noch mehr aber das Sonnenlicht von schädigendem Einflufs

auf Wachstum und Virulenz pathogener Mikroorganismen (Streptococcus pyogenes und Diphtheriebacillus), auf Tetanus- und Diphtherietoxin sowie deren Antitoxine und auf Labferment ist. Immerhin mufs hier hervorgehoben werden, dafs die bakterizide und die giftzerstörende Wirkung des Tages- bzw. Sonnenlichtes bei der von uns gewählten Versuchsanordnung keine so starke ist, wie häufig angenommen wird. Wiederholt konnten wir in unseren in den Monaten Januar, Februar und Mai ausgeführten Versuchen nachweisen, dafs trotz zweistündiger Exposition am Sonnenlichte Diphtheriebazillen und Streptokokken, Tetanus- und Diphtherietoxine ihre Virulenz bzw. Giftigkeit noch nicht eingebüfst hatten. In einigen Fällen konnte selbst nach 5—6 stündiger Exposition am Sonnenlicht weder die bakterientötende noch toxinzerstörende Wirkung desselben nachgewiesen werden. Viel schneller und frappanter tritt diese Wirkung ein, wenn das zu belichtende Medium vorher mit einer 1‰ Eosin- oder Erythrosinlösung, also einem sogenannten photodynamischen oder sensibilisierenden Farbstoffe gefärbt wird. Wie Mettler gezeigt hat, rufen auch geringere Konzentrationen dieser Farbstoffe diese Wirkung hervor, es dürfen aber nicht beliebige Farbstoffe, sondern eben nur sensibilisierende sein.

Aus weiteren Versuchen geht hervor, dafs Lichtstrahlen, welche durch Rubinglas filtriert werden, also »rotes Licht«, keine oder nur unbedeutende Wirkung auf Wachstum und Virulenz pathogener Bakterien sowie auf Antitoxine hatten und zwar selbst nach tagelanger Belichtung. Es blieb sich dabei ziemlich gleich, ob die exponierte Flüssigkeit sensibilisiert war oder nicht. Die Versuche erweitern die von Mettler angegebenen Resultate, indem trotz stärkerer Belichtung und längerer Expositionszeit pathogene Mikroorganismen nicht nur nicht abgetötet, sondern auch in ihrer Virulenz in keiner Weise verändert wurden. Wurde das Licht in Versuchen mit Lab durch eine sensibilisierende Farbstofflösung filtriert, so liefs sich in der Wirkung gegenüber dem direkten Sonnenlicht kein deutlicher Unterschied konstatieren, auch sensibilisierte Lablösungen wurden dadurch nicht mehr als gewöhnlich beeinflufst.

Was die Erklärungen der Lichtwirkung ohne und mit Sensibilisation durch die verschiedenen Autoren anbelangt, so sind dieselben in der Arbeit von Mettler berücksichtigt.

Die neuesten Untersuchungen von Bie [15] haben in Bestätigung der Ansicht von Kruse [27] ebenfalls ergeben, dafs bei der Lichtwirkung neben der Schädigung durch gebildete schädliche Stoffe wie Wasserstoffsuperoxyd die Lichtstrahlen an und für sich schädlich wirken. Was die Wirkung der von Tappeiner als photodynamische und von Dreyer als sensibilisierende bezeichneten Farbstoffe betrifft, so ist eine befriedigende Erklärung bis jetzt nicht erbracht.

Unsere Untersuchungen haben die Resultate von Mettler bestätigt, und wir können ebenfalls die Wirkung von Eosin und von Erythrosin mit Busk [28], Tappeiner und andern als eine Verstärkung der gewöhnlichen Lichtwirkung auffassen. In allen unseren Versuchen konnten wir ebensowenig wie Mettler einen qualitativen Unterschied in der Wirkung des Lichtes auf sensibilisierte und auf nicht sensibilisierte Nährböden konstatieren, sondern nur quantitative, graduelle.

---

## Schlufsfolgerungen.

1. Die bakterizide Wirkung des Tages- bzw. des Sonnenlichtes auf Bouilloukulturen oder Aufschwemmungen von Streptococcus pyogenes und Diphtheriebazillen ist eine geringe. Die Wirkung des Lichtes wird aber bedeutend erhöht, wenn den Flüssigkeiten geringe Mengen (1‰) sensibilisierender Farbstoffe, Eosin oder Erythrosin zugesetzt werden.
2. Das Tageslicht wirkt nicht nur schädigend auf die Lebensfähigkeit, sondern auch auf die Virulenz von Bakterien. Bei unserer Versuchsanordnung war auch diese Wirkung trotz mehrstündiger Expositionszeit keine bedeutende. Wurden die exponierten Aufschwemmungen

hingegen vorher mit Eosin oder Erythrosin gefärbt, so war die virulenzschwächende Wirkung des Lichtes eine viel stärkere.

3. Keimtötende und virulenzschwächende Wirkung des Lichtes gehen Hand in Hand; immerhin konnte wiederholt beobachtet werden, dafs exponierte, sensibilisierte Kulturen nicht mehr virulent waren, obschon dieselben noch entwicklungsfähige Mikroorganismen enthielten.
4. Ähnlich wie gegenüber virulenten Kulturen war die giftzerstörende Wirkung des Tageslichtes gegenüber ungefärbtem Diphtherie- und Tetanustoxin eine beschränkte, währenddem sensibilisierte Giftlösungen in ziemlich kurzer Zeit ihre Giftigkeit für Versuchstiere einbüfsten. Die sensibilisierenden Antitoxine von Diphtherie und Tetanus verloren am Lichte ebenfalls bald ihre spezifischen Eigenschaften.
5. Labferment büfst nach mehrstündiger Exposition am Tageslicht nur wenig von seiner milchgerinnenden Eigenschaft ein; wird die Lablösung mit Eosin oder Erythrosin versetzt, so tritt nach kurzer Belichtung eine deutliche Verlangsamung der Gerinnung ein.
6. Wird das Tageslicht durch Rubinglas filtriert, so ist die bakterientötende sowohl wie die giftzerstörende Wirkung auch bei mehrtägiger Exposition kaum nachweisbar; die sensibilisierten Lösungen werden ebenso wenig beeinflufst als die nicht gefärbten. Die geringen Unterschiede lassen sich wohl auf eine auch während der Exposition im Dunkeln wahrzunehmende chemische Einwirkung des betreffenden Farbstoffes zurückführen. Das von uns geprüfte »Rote Licht« hat also weder eine bakterizide noch eine giftzerstörende Wirkung gezeigt.
7. Das durch verdünnte Eosin- bzw. Erythrosinlösungen filtrierte Licht wirkt auf ungefärbte und auf sensibilisierte Flüssigkeiten nicht intensiver als das Tageslicht; die Wirkung des unveränderten Tageslichtes

war vielmehr stets kräftiger als die Wirkung des durch einen sensibilisierenden Farbstoff filtrierten.

8. Die schädigende Wirkung des Lichtes ist viel stärker bei Luftzutritt als unter Luftabschlufs. Dies gilt auch für die mit photodynamischen Farbstoffen gefärbten Lösungen; wurden sensibilisierte Aufschwemmungen von Bakterien oder Lösungen von Labferment bei Luftabschlufs am Licht exponiert, so war die Schädigung derselben nicht stärker als in den ähnlich exponierten nicht gefärbten Lösungen.

Zum Schlusse sei es mir gestattet, Herrn Privatdozent Dr. W. Silberschmidt, Vorstand der bakteriologischen Abteilung am Hygiene-Institut für die Anregung zu der vorliegenden Arbeit und für die Unterstützung bei der Ausführung derselben bestens zu danken.

## Literatur.


1. Mettler, Experimentelles über die bakterizide Wirkuug des Lichtes auf mit Eosin, Erythrosin nnd Flnoreszein gefärhte Nährböden. Dissertation, Zürich, 1905. Archiv f. Hygiene, 1905, Bd. 53.
2. Downes u. Blnnt, Proceeding of the Royal Society of London, 1877, XXVI, S. 488.
3. Dieudonné, Arbeiten aus dem Kais. Gesundheitsamte, 1894, Bd. 9.
4. Finsen, Om Anvendelse i Medicinen af koncentrerede kemiske Lysstraaler. Köbenhavn, 1896.
5. Tappeiner, Münch. Med. Wochenschrift. 2. Jan. 1900. 5. Nov. 1901. Nr. 16, 1904. Deutsche Med. Wochenschrift, Nr. 16, 1904.
6. Dreyer, Mitteilnngen aus Finsens med. Lichtinstitut, Heft 7, 1904.
7. Bie, Om Lisets Virkning paa Bakterier. Köbenhavn, 1903.
8. Arloing, Comptes rendus, 1885, Vol. C—CI.
9. Dnclaux, Comptes rendus, 1885, Vol C.
10. Palermo, Ref. im Zentralblatt für Bakteriologie, 1895, Bd. 18, S. 665.
11. Chemeleswky, Ref. im Zeutralblatt für Bakteriologie, 1892, Bd. 12.
12. d'Arsonval et Charrin, Comptes rendus. Acad. des Sciences, 1894.
13. Momont, Annales de l'Institnt Pasteur, 1892, VI.
14. Santori, Annales de l'Inst. hyg. Roma, 1890.
15. Bie, Mitteilungen aus Finsens med. Lichtinstitut, Heft I.
16. Kitasato, Zeitschrift f. Hygiene, Bd. 10, 1890.
17. Tizzoni n. Cattani, Archiv f. experiment. Pathologie, 1890, Bd. 27.
18. Fermi u. Celli, Ref. im Zentralblatt f. Bakteriol., 1892, Bd. 12, Nr. 18.
19. Tappeiner n. Jodlhaner, Münch. med. Wocheuschrift, Nr. 17, 1904.
20. Tappeiner, Berichte der d. chem. Gesellschaft, 1903, Bd. 36, S. 3035.
21. Arrhenins u. Madsen, Zeitschrift f. physik. Chemie, 1903, Bd. 44, Heft 1.
22. Downes u. Blnnt, Proceeding of the Royal Society of London, Vol. 28, S. 205.
23. Fermi n. Pernoni, Zeitschrift f. Hygiene u. Infekt., 1894, Bd. 18.
24. Emmerling, Berichte der d. chem. Gesellschaft, 1901, Bd. 34.
25. Tappeiner u. Jodlbauer, Deutsches Archiv f. klin. Medizin, Bd. 80.
26. Schmidt-Nielsen, Mitteilungen aus Finsens med. Lichtinstltut, Heft 9, 1904.
27. Kruse, Zeitschrift f. Hygiene n. Infekt., Bd. 19, S. 312.
28. Busk, Mitteilungen aus Finsens med. Lichtnnstitut, Heft 8, 1904.

# Vernichtung der Bakterien im Wasser durch Protozoen.

Von

Dr. Otto Huntemüller

aus Hoya a. d. Weser.

(Mit Tafel I.)

Professor Emmerich und Dr. Gemünd hatten die Beobachtung gemacht, dafs sich Typhusbazillen, die in grofser Anzahl im Mangfall-Leitungswasser ausgesät waren, nach einigen Tagen darin nicht mehr durch die Kultur nachweisen liefsen, während der Nachweis in sterilem Wasser noch nach längerer Zeit gelang. Da die chemische Zusammensetzung des Wassers in beiden Fällen so ziemlich die gleiche war, konnte hierdurch das verschiedene Verhalten der Bakterien im Wasser nicht erklärt werden. In dem nicht sterilisierten Wasser fanden sich nach diesen Versuchen sehr wenig Keime, nur 8 bis 10 pro ccm, so dafs auch diese die Vernichtung der Typhusbazillen nicht verursacht haben konnten. Dagegen war in dem nicht sterilisierten Wasser eine grofse Menge Protozoen nachweisbar, während das sterilisierte natürlich frei davon war.

Aus diesen Beobachtungen glaubte Professor Emmerich die Abnahme der Typhusbakterien im Wasser auf die Tätigkeit der Protozoen zurückführen zu dürfen. Es gelang ihm auch durch die von Giemsa für die Malariaplasmodien vorgeschlagene Färbungsmethode Bazillen in den Protozoen, und zwar waren letztere Flagellaten, nachzuweisen, auch konnte er die Bakterien in verschiedenen Stadien der Auflösung im Flagellatenkörper sehen.

Auf seine Veraulassung und unter seiner gütigen Beihilfe befafste ich mich näher mit diesen Beobachtungen.

Die Versuche wurden mit den verschiedensten Wässern und, wenn nicht besonders erwähnt, in diffusem Tageslicht bei Zimmertemperatur angestellt. Die Wasserentnahme geschah in sterilem Glase, das halbgefüllt etwa 100 ccm fafste. Zum Vergleich wurde meist ein Versuch mit sterilem oder keimfrei filtriertem Wasser, d. h. Wasser, in dem keine Flagellaten waren, gemacht.

In allen Brunnen, Flüssen und Quellen, die wir untersuchten, ja selbst wenn sie erst gerade aus dem Boden herauskamen, liefsen sich Protozoen nachweisen, und zwar sind es in den reinen Wässern, z. B. dem Mangfallwasser (dem Münchener Trinkwasser) Wasser aus einem Brunnen bei Schäftlarn etc., hauptsächlich die beiden Flagellateuarten Bodo ovatus und Bodo saltans, und unter diesen wieder besonders der erste.

Mangfallwasser am 6. 5. 04 zu je 3,0, 2,0, 1,0 und 0,5 ccm in sterilisiertem Reagensglase mit einer grofsen Anzahl Typhusbazillen versetzt, enthielt am 16. 5. in allen Proben reichlich diese beiden Arten. Ja, in 0,05 ccm Mangfallwasser liefsen sich auf diese Weise Flagellaten nachweisen, während in sterilem, auf gleiche Weise beschicktem Wasser keine Flagellaten enthalten wareu, so dafs also iu 0,05 ccm Mangfallwasser mindestens ein Flagellat oder eine Spore vorhanden sein mufste. Auf 1 ccm Mangfallwasser treffen somit im Sommer wenigstens 20 Flagellaten.

Als Bakterienmaterial diente meist eine frische, 24 Stunden bei 37° auf Agar gewachsene Typhuskultur, doch wurden auch Versuche mit anderen Bakterien gemacht.

Alle diese Versuche ergaben dasselbe Rcsultat, nach 2 bis 3mal 24 Stunden waren die Typhusbazillen aus dem Wasser nahezu verschwunden, wenigstens so, dafs sie sich durch das gewöhnliche Gelatine-Plattenverfahren nicht mehr nachweisen liefsen.

Die Zahl der Flagellaten hatte dagegen ganz bedeutend zugenommen.

**Verschiedene Stadien der Aufnahme und Verdauung von gefärbten Typhusbazillen durch Bodo ovatus.**

Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 5.

Fig. 6.

Fig. 7.

Fig. 8.

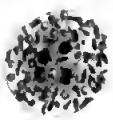


Fig. 9.

Fig. 10.

Fig. 11.

Fig. 12.

Fig. 13.

Zeiss, Homogene Immersion. Brennweite 3,0 mm. Tubuslänge 160 mm. Compens. Okular 12.

... von R. Oldenbourg, München und Berlin. Lith. F. Reichhold, München

Digitized by Google

Sehr interessant ist auch das Verhalten der Wasserbakterien. Diese nahmen, solange die Flagellaten an den eingesäten Typhusbazillen reichlich Nahrung fanden, beständig zu, doch vom dritten Tage an wieder stetig ab und waren am vierten Tage bedeutend weniger vorhanden als bei Beginn des Versuchs, da sie den stark vermehrten Flagellaten jetzt leichter zur Beute fielen.

### Versuch vom 6. V. 1904.

a) Das Wasser aus dem Brunnen des hygienischen Instituts hatte am 6. V. eine Keimzahl von 6930 pro 0,05 ccm (gezählt nach 48 Stunden), also in 1 ccm 138 600 Wasserbakterien und eine ziemliche Menge von Flagellaten, Infusorien und anderen Protozoen.

Von diesem Wasser werden 100 ccm mit einer Öse einer frischen Typhusagarkultur versetzt und wiederholt umgeschüttelt, um das Bakterienmaterial gut zu verteilen. Davon wird sofort eine Öse, die etwa 0,005 ccm fafst, zu einer Gelatineplatte ausgegossen. Diese Platte, die 24 Stunden bei 22° im Wärmeschrank gestanden hat, ergibt am:

| | | |
|---|---|---|
| 7. V. . . . | 176 400 | Kolonien pro Platte |
| nach 24 Std. | 20 070 | » » » |
| » 2×24 » | 360 | » » » |

Unter diesen 360 Kolonien waren nur noch einige wenige, welche typhusbazillenverdächtiges Aussehen hatten.

b) am 7. V. wird der Versuch mit Wasser aus dem Brunnen des hygienischen Instituts wiederholt, nach Zusatz einer Öse einer 24 Stunden bei 36° gewachsenen Typhusagarkultur und kräftigem Umschütteln werden drei Ösen des infizierten Wassers zu einer Gelatineplatte ausgegossen, auf dieser wachsen in 24 Stunden bei 22° im

| | |
|---|---|
| Warmeschrank . . . . . | 214 200 Kolonien |
| aus 3 Ösen nach 24 Std. . . . . | 20 340 » |
| » 5 » » 48 » . . . . . | 7 200 » |

Eine Identifizierung der wenigen, nach 48 Stunden vorhandenen typhusbazillenähnlichen Kolonien wurde nicht ausgeführt.

### Versuch vom 12. V. 1904.

Wasser aus einem Brunnen in der Nähe des Bavariadenkmals enthält in 0,01 ccm 2700 Wasserbakterien. Zu 100 ccm werden drei Ösen einer frischen Typhusagarkultur gesetzt und hiervon nach mehrmaligem Umschütteln fünf Ösen à 0,005 ccm zu einer Gelatineplatte ausgegossen. Es wachsen auf der wie im vorigen Versuch

| | |
|---|---|
| behandelten Platte . . . . . | 261 000 Kolonien |
| aus 5 Ösen nach 20 Std. . . . . | 195 300 » |
| » 5 » » 46 » . . . . . | 135 000 » |
| » 5 » » 68 » . . . . . | 8 280 » |

darunter sehr wenig typhusbazillenähnliche Kolonien.

### Versuch vom 19. V. 1904.

Münchener Leitungswasser (Mangfallwasser) enthält am 19. V. in 1 ccm 4 Kolonien des Bac. fluorescens liquefaciens. Hiervon werden 100 ccm mit drei Ösen einer frischen Typhusagarkultur versetzt und nach gutem Umschütteln drei Ösen zu einer Platte ausgegossen. Es ergeben sich

| | | |
|---|---|---|
| sofort . . . . . | 151 200 | Kolonien |
| aus 3 Ösen nach 24 Std. . . . . | 56 700 | » |
| » 3 » » 48 » . . . . . | 16 200 | » |

Werden von diesen letzteren alle verdächtigen Kolonien als Typhusbazillen gezählt, so ergeben sich 2430 Typhusbazillenkolonien.

Waren in einem Wasser schon an und für sich viele Flagellaten enthalten, so läfst sich schon nach einer Stunde eine deutliche Abnahme der eingesäten Typhusbazillen konstatieren, während Typhusbazillen im sterilen Wasser nach dieser kurzen Zeit sogar öfters etwas zugenommen hatten. Dies letztere erklärt sich daraus, dafs viele Bakterien der Agarkultur in Teilung begriffen waren, als sie ins Wasser verimpft wurden, in welchem sich alsdann die Teilung in der ersten Stunde noch vollständig vollzog. Stellte man nämlich eine starke Suspension von Typhusbazillen in einigen Kubikzentimetern sterilen Wassers her, liefs diese etwa 1 Stunde stehen und verimpfte hiervon, so fand keine Vermehrung statt.

### Versuche vom 20. VI. 1904.

a) Wasser aus dem Brunnen des hygienischen Instituts wird mit einer Öse einer frischen Typhusagarkultur versetzt. Die aus drei Ösen gegossene Platte ergibt

| | | |
|---|---|---|
| sofort . . . . . | 199 350 | Kolonien |
| nach 1 Std. . . . . | 148 680 | » |

b) Ein am selben Tage wiederholter zweiter Versuch ergibt aus drei Ösen

| | | |
|---|---|---|
| sofort . . . . . | 124 830 | Kolonien |
| nach 1 Std. . . . . | 81 900 | » |

### Versuche vom 21. VI. 1904.

a) Wasser aus dem Brunnen des hygienischen Instituts, auf dieselbe Weise wie in den vorigen Versuchen mit Typhuskeimen versetzt, ergibt aus drei Ösen

| | | |
|---|---|---|
| sofort . . . . . | 241 650 | Kolonien |
| nach 1 Std. . . . . | 140 598 | » |

pro Platte.

b) Im strömenden Dampf sterillsiertes Wasser ans dem Brunnen des Instituts wird gleichfalls mit Typhnsbazillen versetzt und enthält in drei Ösen

| | | |
|---|---|---|
| sofort . . . . . | 134 900 | Typhnskeime |
| nach 1 Std. . . . . | 201 600 | » |

### Versuch vom 22. VI. 1904.

a) 100 ccm Wasser aus dem Instituts-Brunnen wird mit fünf Ösen einer Aufschwemmnng in 2 ccm sterilem Wassers elner frischen Agartyphnshazillenknltur versetzt, die eine Stnnde lang gestanden hat. Ans drei Ösen ergeben sich

| | | |
|---|---|---|
| sofort . . . . . | 64 350 | Kolonien |
| nach 1 Std. . . . . | 43 497 | » |

b) 100 ccm sterilisiertes Wasser ans dem Instituntshrunnen wie bei a) behandelt ergibt

| | | |
|---|---|---|
| sofort . . . . . | 50 103 | Typhnskolonien |
| nach 1 Std. . . . . | 52 875 | » |
| » 48 » . . . . . | 11 700 | » |
| » 11 × 24 Std. . . . . | 387 | » |

Der folgende Versuch zeigt, dafs auch die Wasserbakterien ebenso schnell wie die Typhusbazillen von den Protozoen gefressen werden.

Am 22. VI. werden zn Wasser aus dem Institutsbrunnen drei Ösen einer frischen, 24 Stnnden hei 37° anf Agar gewachsenen Kultur des Bacillns finorescens liqnefaciens gesetzt nnd hiervon drei Ösen zn einer Gelatineplatte ansgegossen; man erhält auf der Platte

| | | |
|---|---|---|
| sofort . . . . . | 352 000 | Kolonien |
| nach 1 Std. . . . . | 264 600 | » |
| » 24 » . . . . . | 11 160 | » |

### Versuch vom 29. VI. 1904.

Aus dem Instituntsbrnnnen werden drei Ösen in ein Bouillonröhrchen verimpft und dieses 24 Stnnden hei 37° im Wärmeschrank stehen lassen. Von dieser Bouillonknltur, in der sich die Wasserbakterien während dieser Zeit sehr reichlich vermehrt hatten, werden drei Ösen zn ca. 100 cbm Wasser aus dem Brunnen des hygienischen Instituts gesetzt. Auf der sofort nach der Einsaat ans 3 Ösen gegossenen Gelatineplatte wachsen

| | | |
|---|---|---|
| sofort . . . . . | 260 380 | Kolonien |
| nach 1 Std. . . . . | 236 394 | » |
| » 24 » . . . . . | 24 930 | » |
| » 48 » . . . . . | 2 160 | » |

Die Temperatur spielt bei der Vernichtung der Bakterien auch eine Rolle; nach meinen bisherigen Versuchen scheint

26—30° C das Optimum für die Entwicklung und Frefstätigkeit der Protozoen zu sein. Auch das Licht scheint einen Einfluſs hierbei auszuüben, doch sind die Versuche hierüber noch nicht abgeschlossen.

### Versuch vom 24. VI. 1904.

a) Wasser aus dem Institutsbrunnen wird mit einer frischen Typhuskultur versetzt und bei 26° C im Wärmeschrank gehalten.

Aus drei Ösen wachsen

| | | |
|---|---|---|
| sofort . . . . . | 428 400 Kolonien | gezählt nach 48 Std. |
| nach 1 Std. . . . . | 340 000 » | |
| » 24 » . . . . . | 79 200 » | |

nach 48 Stunden Platte fast steril, Typhusbazillen nicht mehr nachweisbar.

b) Steriles Wasser aus dem Institutsbrunnen wie, bei a behandelt, ergibt aus drei Ösen

| | | |
|---|---|---|
| sofort . . . . . | 315 000 Kolonien | gezählt nach 48 Std. |
| nach 1 Std. . . . . | 331 794 » | |
| » 24 » . . . . . | 235 980 » | |
| » 4 × 24 Std. . . . | 10 845 » | |
| » 14 × 24 » . . . | 840 » | |

nach 20 × 24 Stunden Platte steril.

Während die Abnahme der Bakterien nach 1 Stunde sehr beträchtlich ist, ist sie nach der zweiten Stunde nur gering. Dies erklärt sich daraus, dafs die Flagellaten sich in der ersten Stunde vollgefressen haben und in der zweiten Stunde verdauen, wie ich dies wiederholt unter dem Mikroskop beobachten konnte.

### Versuch vom 26. VI. 1904.

a) Mit Typhuskeimen versetztes Wasser aus dem Institutsbrunnen wird bei 30° C im Wärmeschrank gehalten; aus drei Ösen wachsen

| | | |
|---|---|---|
| sofort . . . . . | 153 775 Kolonien | gezählt nach 48 Std. |
| nach 1 Std. . . . . | 102 960 » | |
| » 2 » . . . . . | 104 994 » | |
| » 4 » . . . . . | 87 957 » | |
| » 24 » . . . . . | 33 930 » | |

nach 48 Stunden Platte bleibt fast steril.

b) Derselbe Versuch mit sterilisiertem Wasser aus dem Institutsbrunnen aus drei Ösen

| | | |
|---|---|---|
| sofort . . . . . | 195 075 Kolonien | gezählt nach 48 Std. |
| nach 1 Std. . . . . | 203 180 » | |
| » 24 » . . . . . | 128 180 » | |
| » 2 × 24 Std . . . | 108 420 » | |
| » 4 × 24 » . . . | 59 580 » | |
| » 13 × 24 » . . . | 2 970 » | |

nach 19 × 24 Stunden Platte fast steril, nach 23 × 24 Stunden werden 10 Ösen in Bouillon übertragen; bei 37° C im Wärmeschrank entwickeln sich Typhusbazillen.

Verimpft man eine geringere Zahl Typhuskeime ins Wasser, so nehmen auch die Flagellaten nicht in dem Mafse zu, als wie bei gröfserer Aussaat, auch spielt hierbei die Menge der schon vor dem Versuch im Wasser befindlichen Flagellaten eine Rolle; da die Bazillen bei der geringen Anzahl der Flagellaten den Nachstellungen derselben eher entgehen, so können sie sich auch länger im Wasser erhalten.

Am 7. VII. wird zu Mangfallwasser eine Öse einer Aufschwemmung einer frischen Typhusbazillenkultur in steriles Wasser gesetzt. Auf der sofort aus 3 Ösen gegossenen Gelatineplatte wachsen 45000 Kolonien. Die Anzahl der Flagellaten ist nach 24 Stunden nicht sehr beträchtlich vermehrt. Am 17. VII. werden 10 Ösen in ein Bouillonröhrchen verimpft und dies 14 Stunden bei 37° C im Wärmeschrank gehalten. Von dieser Bouillonkultur werden 3 Ösen zu 3 Gelatineplatten verarbeitet. Auf Platte 3. wachsen neben vielen Wasserbakterien auch einige Typhuskolonien, die in Bouillon überimpft und nach 24stündigem Wachstum bei 37° C durch die Agglutination als Typhus erwiesen werden.

Ebenso liefsen sich in einem zweiten, am gleichen Tage mit Mangfallwasser angestellten Versuch, der nach der Einsaat 35010 Kolonien in 3 Ösen enthielt, nach 10 Tagen Typhusbazillen durch die Agglutination nachweisen.

Aus zwei anderen Proben, die am 11. VII. mit einer grofsen Anzahl Typhuskeime versetzt wurden, und von denen die eine in 3 Ösen sofort nach der Aussaat 225000, die andere 405000 Keime enthielt, liefsen sich auf die oben angeführte Weise nach 6 Tagen Typhusbazillen durch die Agglutination nachweiseu.

Alle diese Versuche geben dasselbe Resultat; die in grofser Zahl ins Wasser verimpften Typhuskeime werden durch die Protozoen in wenigen Tagen vernichtet oder wenigstens so dezimiert, dafs sie nur noch schwer im Wasser nachzuweisen sind. Die Flagellaten haben sich während dieser Zeit ganz

bedeutend vermehrt und nehmen erst allmählich wieder bis auf ihren früheren Bestand ab. Über ihre Zahl genaue Angaben zu machen, ist jedoch nicht möglich.

Im zweiten Hefte des 52. Bandes des Archiv für Hygiene, S. 208, veröffentlicht Dr. W. Hoffmann Untersuchungen aus dem hygienischen Institut zu Berlin: über die Lebensdauer der Typhusbazillen im Aquariumwasser, welche im wesentlichen dieselben Resultate ergaben wie die meinigen.

Am 10. November 1904 hatte er eine Typhusaufschwemmung in ein Aquarium gegossen. Gleich nach der Aussaat fanden sich 336416 Typhuskeime pro 1 ccm Aquariumwasser mit 59590 Wasserkeimen. Am 13. Mai, also nach etwa dreimal 24 Stunden, wurden von der Oberfläche des Wassers an verschiedenen Stellen 4 Ösen entnommen und auf Drigalski-Conradi-Platten ausgestrichen. Hieraus wuchsen bis zum nächsten Tage zwei verdächtige Kolonien, von denen nur die eine durch die Agglutination als Typhuskolonie festgestellt wurde. Nehmen wir an, dafs die Öse, wie die unsere, etwa 0,005 ccm faſste, so fand sich also in 0,02 ccm nach dreimal 24 Stunden ein Keim, in 1 ccm 50 Keime. Also hatten die Typhusbazillen nach diesem Versuche innerhalb dreimal 24 Stunden in einem Kubikzentimeter von 336416 auf 50 abgenommen. Am 18. Mai, also nach fünfmal 24 Stunden, lieſsen sich auf diese Weise keine Typhuskeime mehr nachweisen. Auch die Wasserbakterien hatten am 31. Mai von anfangs 59590 auf 900 abgenommen und betrugen am 11. Juli 1518 pro ccm. Ein Befund, der mit dem meinen gleichfalls übereinstimmt.

Hätte Herr Dr. Hoffmann auch dem Verhalten der Protozoen Beachtung geschenkt, so würde er ihre Zahl in den ersten Tagen, solange sie reichlicheres Futter hatten, bedeutend vermehrt gefunden haben, alsdann wären sie erst allmählich zu ihrem alten Bestande bei Beginn des Versuchs wieder herabgesunken. Er würde also auch in diesem Punkte zu demselben Resultat gekommen sein wie ich:

Dafs sich durch das Anreicherungsverfahren am 19. Mai aus 45 ccm Aquariumwasser und am 7. Juni aus 90 ccm noch Typhusbazillen nachweisen lieſsen, ist nichts Ungewöhnliches und

stimmt auch mit meinen Beobachtungen überein. Siehe Versuche vom 7. und 11. Juli.

Ob aber die Typhuskeime in dieser Verdünnung eine Infektion veranlassen können, das erscheint mir sehr zweifelhaft, zumal auch die Selbstinfektionsversuche von v. Pettenkofer und Emmerich dafür sprechen, dafs Infektionen vom Intestinaltraktus aus in der Regel nur durch Zufuhr gröfserer Mengen pathogener Bakterien zustande kommen.

Wenn aus den obigen Versuchen schon hervorgeht, dafs die Abnahme der Typhuskeime im Wasser durch die Tätigkeit der Protozoen bedingt ist, so wird dies durch die mikroskopische Untersuchung aufser allen Zweifel gestellt.

Da bei Trockenpräparaten der Protozoenkörper nicht intakt bleibt, und nicht die verschiedenen Stadien der Bakterienaufnahme und Verdauung sich verfolgen lassen, so versuchte ich, die Beobachtungen an lebenden Protozoen zu machen. Das Präparat im hängenden Tropfen war hierzu nicht brauchbar, da die tiefer liegenden Schichten, in denen sich die Protozoen meist aufhielten, unter dem Mikroskop bei starker Vergröfserung nicht einzustellen waren und die schnell beweglichen Protozoen leicht aus der eingestellten Ebene verschwanden. Ich versah daher ein Deckgläschen an den vier Ecken mit kleinen Wachsfüfsen, wie es bei zoologischen Untersuchungen üblich ist, deckte dieses über den auf dem Objektträger befindlichen protozoenhaltigen Wassertropfen und konnte durch Abschmelzen der Wachsfüfschen mit einem erwärmten Glasstabe oder einer Platinöse den Tropfen in einer ganz dünnen Schicht ausbreiten, ohne dafs die Protozoen hierdurch beschädigt wurden. Sie schwammen sehr lebhaft im Präparat umher und konnten jetzt auch bei starker Vergröfserung unter dem Mikroskop bequem beobachtet werden. Zeifs' homogene Immersion:

| | | |
|---|---|---|
| Brennweite | 3,0 | mm |
| Kompensationsokular | 12 | » |
| Tubuslänge | 160 | » |

Diese Methode hatte aber noch weitere Vorteile. Der Sauerstoff der Luft hatte zum Tropfen stets Zutritt, das verdunstete

Wasser läfst sich leicht ersetzen, und der Zusatz der Bakterien konnte bequem zu jeder Zeit erfolgen, so dafs man den Vorgang bei ihrer Vernichtung durch die Protozoen von Anfang an beobachten konnte.

Das Protozoenmaterial war unschwer zu erhalten. Zu einigen Kubikzentimetern eines an Protozoen reichen Wassers setzte ich im Reagenzglase so viel frische Typhuskeime, bis eine deutliche Trübung auftrat, wartete nun einige Tage, bis diese Trübung wieder verschwunden war und hatte jetzt in dem Wasser eine grofse Zahl von Flagellaten und Infusorien. Aus Mangfallwasser konnte ich auf diese Weise nur die beiden Flagellatenarten, Bodo ovatus und Bodo saltans (bestimmt von Herrn Dr. Doflein) züchten. Im Wasser aus der Ruhr, das acht Monate lang gestanden hatte, in welchem sich mikroskopisch keine Protozoen mehr auffinden liefsen, konnte man nach Einsaat von Typhusbazillen eine reichliche Menge von Protozoen nachweisen. Beim Wasser aus dem Brunnen des hygienischen Instituts, das seit dem 23. Juli 1904 im Dunkeln gestanden und in dem sich die Flagellaten auf Zusatz von Typhusbazillen reichlich vermehrt hatten, fanden sich am 17. Februar dieses Jahres bei mikroskopischer Untersuchung keine beweglichen Flagellaten, dagegen viele Sporen, die sich unter dem Mikroskop auf Zusatz von Typhusbazillen zu Flagellaten entwickelten.

Nach einigen Tagen, während welcher Zeit die Probe am Lichte gestanden hatte, liefsen sich in dem Wasser auch ohne Bakterienzusatz Protozoen nachweisen, doch waren diese sehr wenig beweglich und nicht gröfser als die Sporen, hatten aber deutliche Geifseln und kontraktile Vakuolen. Auf Zusatz von Typhusbazillen wurden die Bewegungen sofort lebhafter und nach einiger Zeit hatten sie die gewöhnliche Gröfse der Flagellaten erlangt.

Da die Beobachtung des ungefärbten Präparates schwierig war, obwohl ich schon hier sehen konnte, wie die Bakterien von den Flagellaten aufgenommen wurden, so suchte ich durch verschiedene Färbungen diese Schwierigkeit zu heben, doch die Protozoen wurden durch die Farbstoffe, selbst in geringer Konzentration, getötet. Ich versuchte daher, die Bakterien zu färben, und es gelang mir, ein

Verfahren zu finden, bei welchem die Eigenbewegung der Bakterien nicht beeinträchtigt wurde. Eine Öse Agarkultur von Typhusbazillen mit lebhafter Eigenbewegung wird auf einen Objektträger gebracht, und hierzu, ohne das Material weiter zu verreiben, ein Tropfen einer starken, wäfsrigen Methylenblaulösung gesetzt. Den Farbstoff lasse ich unter leichtem Erwärmen über der Flamme etwa 10 Minuten einwirken; damit die Bazillen nicht eintrocknen, setze ich mit der Platinöse ein oder zwei Wassertropfen hinzu und rühre zugleich gut um. Dann übertrage ich die mit gefärbtem Bakterienmaterial beladene Öse in einen zweiten Tropfen und von da in einen dritten etc., bis sich der letzte Tropfen nur mehr schwach blau färbt. Dieser enthält dann noch eine genügend grofse Menge Typhuskeime, die man ruhig dem die Protozoen enthaltenden Präparat zusetzen kann, ohne befürchten zu müssen, dafs diese absterben. Die Protozoen verhalten sich beim Ergreifen der Bakterien verschieden. Einige Arten, wie namentlich Bodo saltans, erjagen ihre Beute im Herumschwärmen und eignen sich daher nicht so gut zur Beobachtung. Der Bodo ovatus liegt meist während der Frefs- und Verdauungsperiode still, und man kann an ihm daher diese Vorgänge sehr gut und fortdauernd beobachten.

Die folgenden Untersuchungen sind am Bodo ovatus gemacht, der sich in jedem von uns untersuchten Wasser fand und auf Bakterienzusatz besonders stark vermehrte. Gleich nach dem Zusatz werden die nach der vorhin angegebenen Methode gefärbten Typhusbazillen durch die Geifseln des Flagellats herbeigestrudelt. Nach wenigen Minuten sieht man, wie ein Bazillus von dem Protoplasma umflossen wird und sich jetzt am Rande desselben in einer Nahrungsvakuole befindet. Bald folgt ihm ein zweiter und sofort. Bei reichlichem Bakterienzusatz kann man nach einer halben bis ganzen Stunde den Flagellaten mit Bazillen ganz vollgefressen sehen. Dieser hört jetzt mit der Bakterienaufnahme für eine längere Zeit auf und liegt ruhig, er verdaut. Erst nach etwa einer halben Stunde kommt wieder mehr Bewegung in ihn, er streckt sich in die Länge, um dann, nachdem er seine alte Gestalt wieder angenommen hat,

im Wasser umher zu schwimmen. Von da ab ist die weitere Beobachtung schwierig.

Den Verdauungsvorgang beobachtet man am besten, wenn man eine geringere Bakterienzahl zugesetzt hat, alsdann kann man die verschiedenen Stadien von der Aufnahme bis zur völligen Auflösung der Bakterien verfolgen. Zuerst sieht man den Bazillus, wie schon oben gesagt, am Rande des Flagellatenkörpers in einer Nahrungsvakuole in heftiger Bewegung. Er sucht aus dem ihn umschliefsenden Protoplasma wieder los zu kommen, und manchmal gelingt es ihm auch, besonders wenn die Flagellaten durch längeres Verweilen im Präparat nicht mehr so lebensfähig sind. Meist jedoch rückt die Vakuole mit dem Bazillus mehr in die Mitte des Protoplasmas vor und vereinigt sich mit anderen, die auch noch bewegliche Bakterien enthalten. Die Bewegungen derselben dauern noch zehn Minuten an, werden allmählich schwächer und hören dann ganz auf; jetzt beginnen die eingeschlossenen Bakterien nach und nach zu zerfallen, die Zerfallprodukte fliefsen zusammen und nach einiger Zeit sind auch die letzten Reste von ihnen verschwunden. Auch das Methylenblau scheint chemisch verändert zu werden, denn die Flagellaten, die mit blaugefärbten Bakterien förmlich vollgepfropft waren, haben nach der Verdauung derselben ihr ursprüngliches Aussehen wieder bekommen und sind nicht blau gefärbt. Diese Beobachtungen kann man, wenn man das verdunstete Wasser des Präparats von Zeit zu Zeit durch frisches ersetzt, längere Zeit ausdehnen (man setzt am besten von dem Protozoen haltenden Wasser zu, da man auf diese Weise wieder neue lebenskräftige Individuen im Präparat bekommt).

Durch diese Versuche und mikroskopische Befunde ist es wohl über allen Zweifel festgestellt, dafs die Vernichtung der Typhuskeime im Wasser nicht durch das Überwuchern und die Konkurrenz der Wasserbakterien, sondern hauptsächlich auf die Tätigkeit der Protozoen zurückzuführen ist.

Ob und welchen Einflufs hierbei Licht und Osmose ausüben, soll noch näher untersucht werden.

# Über den Gewichtsverlust des Fischfleisches beim Dünsten.

Von

Dr. **Friedrich Peters,**
Assistenten des Institutes.

(Aus den Hygienischen Institnten der Universität Berlin. Direktor: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. M. Rubner.)

Die meisten uns vorliegenden Analysen von Nahrungsmitteln betreffen die Zusammensetzung der Rohmaterialien. Von diesen Angaben ausgehend, schliefst man bei diätetischen Mafsnahmen und Untersuchungen auf dem Gebiete der Ernährungslehre dann zumeist auf die Zusammensetzung und den Wert der zugeführten Nahrung. Doch genügt, wie Rubner in seiner Physiologie der Nahrung und Ernährung[1]) betont, die Betrachtung der Rohmaterialien nicht als Basis für die Ernährungslehre, denn die Nahrungsmittel werden bei ihrer Zubereitung mehr oder minder verändert. Der Faktor, welcher dabei fast stets in Anwendung kommt, ist das Erwärmen; den Einfluſs desselben hat Rubner nach verschiedenen Richtungen teils selbst, teils durch seine Schüler untersucht. So fand Nothwang[2]), daſs bei der durch die Wärme hervorgerufenen Veränderung aus dem Fleische neben dem Wasser und Salzen Extraktivstoff und etwas Eiweifs austritt. Den so eintretenden Eiweifsverlust studierte weiterhin eingehender für verschiedene Fleischarten von Säugetieren Ferrati[3]).

1) v. Leyden, Handbnch, 2. Anfl., I.
2) Dieses Archiv, Bd. XVIII, S. 80.
3) Dieses Archiv, Bd. XIX, S. 317.

Da nun schon nach den alltäglichen Erfahrungen in der Küche Fischfleisch sich beim Erwärmen hinsichtlich der Gewichtsabnahme etwas anders zu verhalten scheint als Rindfleisch oder das Fleisch von anderen Säugetieren, so forderte mein hochverehrter Chef, Herr Geheimrat Rubner, mich auf, die Gewichtsabnahme von Fischfleisch zu studieren. Für die Anregung zu diesen Untersuchungen spreche ich ihm an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank aus.

Die Gewichtsabnahme interessiert uns nicht so sehr hinsichtlich der Qualität, als vielmehr wegen der Quantität, und zwar aus folgendem Grunde: Was verloren geht, ist gröfstenteils Wasser, welches durch die bei der Koagulation des Eiweifses eintretende Schrumpfung unter beträchtlichem Drucke ausgepreſst wird; die zurückbleibende Masse wird also reicher an Trockensubstanz. Je reicher so das Fleisch an Trockensubstanz wird, desto mehr geronnenes Eiweifs wird sich in dem Fleische finden und desto zahlreicher die in einem bestimmten Volumen enthaltenen Muskelfibrillen sein. Sie werden enger aneinander gerückt sein und zugleich zäher, so dafs der den Kauwerkzeugen sich entgegenstellende Widerstand erhöht ist. Die Kaubarkeit hat aber auch zweifellos einen bestimmenden Einflufs auf die Schmackhaftigkeit einer Fleischsorte. Freilich hängt dieselbe noch von anderen Faktoren ab, aber die Gewichtsabnahme gibt uns doch einen Mafsstab. Und auch ein zweiter Punkt ist zu berücksichtigen. Wir können wohl annehmen, dafs Speisen, die den Kauwerkzeugen keine so grofse Arbeitsleistung auferlegen, besser zerkleinert werden; es wird daher bei ihnen weniger leicht die Gefahr eintreten, dafs gröbere Stücke in den Darmkanal gelangen, die dann nicht verdaut werden. Also auch die Ausnutzung wird in Beziehung treten können zu der Gewichtsabnahme. Allerdings ist auch die Ausnutzbarkeit wieder von so vielen Verhältnissen[1]) beeinflufst, dafs uns die Gewichtsabnahme nur einen Fingerzeig geben kann.

1) Rubner in v. Leyden, Handbuch, 2. Aufl., I, S. 118.

Bei meinen Untersuchungen ging ich in folgender Weise vor:

Die Fische, ausgenommen der Lachs, wurden lebend ins Institut gebracht, getötet und sofort verarbeitet. Nachdem sie zunächst abgeschuppt waren, wurden aus dem Rückenmuskel Stückchen von dem in der Tabelle angegebenen Gewichte, die frei von Gräten, Schuppen und Muskelhaut waren, herausgeschnitten, zwischen zwei Uhrschalen gewogen, und die einen sofort getrocknet, die anderen gedünstet.

Die dazu bestimmten Stückchen wurden sofort nach dem Wägen in hohe Bechergläser gebracht, welche mit einem Kork luftdicht verschlossen waren. Der Kork war durchbohrt von einem Draht, der ausgebogen war in einen Haken, an dem das Fleischstückchen hing, und ein kleines korbartiges Geflecht. Diese Vorsicht mufs man bei Fischfleisch gebrauchen, da es bisweilen durchschneidet. Die Gläser mit den Fleischstücken kamen in den Dampftopf und wurden von dem Zeitpunkte, wo das Thermometer 98,5° C zeigte, eine Stunde daringelassen. Nach dem Abkühlen wurden die Stückchen gewogen und ebenfalls getrocknet. Die Trockenbestimmung des Fleisches geschah in der üblichen Weise im Dampfwassertrockenschrank bis zur Gewichtskonstanz.

Bei einer Reihe von Fischstückchen wurde eine Fettbestimmung angeschlossen, die im Soxhletschen Extraktionsapparate vorgenommen wurde. Nach einer erstmaligen Extraktion wurde das Material weiter zerkleinert und zerrieben und nochmals extrahiert bis zur Gewichtskonstanz des Ätherextraktes. Die Bestimmung des Fettes mufs ausgeführt werden, denn wir müssen annehmen, dafs die Gewichtsabnahme von der Menge des koagulierenden Eiweifses abhängt; ein höherer Fettgehalt könnte daher durch das relative Zurückdrängen des Eiweifses das Endresultat in dem Sinne beeinflussen, dafs fettes Fleisch im Verhältnis zu seiner Masse durch die Hitze nur wenig an Gewicht verliert, mageres aber weit mehr. Weiterhin ist zu berücksichtigen, dafs nach Rubners[1]) Erfahrungen fettes Fleisch die Wärme weniger gut

1) v. Leyden, Handbuch, 2. Aufl., I, S. 88.

leitet; dieselbe könnte in fettes Fleisch also weniger durchdringen, so dafs zu einer bestimmten Zeit noch nicht alle Eiweifsstoffe geronnen wären, denn, wie Milroy[1]) im hiesigen Institute gezeigt hat, nimmt die Menge des koagulierten Eiweifses mit der Temperatur zu.

Die Resultate meiner Untersuchungen habe ich in folgender Tabelle zusammengestellt:

| 1. | 2. | 3. | 4. | 5. | 6. | 7. | 8. | 9. | 10. | 11. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Gewicht der | | Verlust beim Dünsten | Trockensubstanz | | | Ätherextrakt | | |
| | Fischsorte | | | | | berechn. auf | | | berechnet auf | |
| | | frisch. Subst. | gedünst. Subst. | | Gewicht | frisch. Subst. | gedünst. Subst. | Gewicht | frisch. Subst. | gedünst. Subst. |
| | | g | g | % | g | % | % | g | % | % |
| 1 | Sommerkarpfen I | 26,06 | 18,49 | 29,05 | 4,40 | 16,88 | 23,80 | — | — | — |
| 2 | » | 22,89 | 16,29 | 28,83 | 3,90 | 17,04 | 23,94 | — | — | — |
| 3 | » | 18,76 | — | — | 3,49 | 18,60 | — | — | — | — |
| 4 | Sommerkarpfen II | 20,47 | 13,37 | 34,69 | 3,36 | 16,41 | 25,11 | — | — | — |
| 5 | » | 16,61 | 10,93 | 34,20 | 2,77 | 16,68 | 25,34 | — | — | — |
| 6 | » | 22,10 | — | — | 4,09 | 18,51 | — | — | — | — |
| 7 | Karpfen I | 17,33 | — | — | 3,65 | 21,06 | — | — | — | — |
| 8 | » | 26,00 | 16,66 | 35,92 | 4,89 | 18,81 | 29,35 | — | — | — |
| 9 | » | 23,66 | 14,95 | 36,81 | 4,66 | 19,70 | 31,17 | — | — | — |
| 10 | Karpfen II | 16,69 | — | — | 3,10 | 18,57 | — | — | — | — |
| 11 | » | 15,75 | 11,92 | 24,32 | 2,68 | 17,02 | 22,48 | — | — | — |
| 12 | » | 15,40 | 11,76 | 23,64 | 2,65 | 17,21 | 22,53 | — | — | — |
| 13 | Karpfen III | 12,68 | — | — | 2,48 | 19,56 | — | 0,085 | 0,67 | — |
| 14 | » | 14,64 | 10,77 | 26,43 | 2,69 | 18,37 | 24,98 | 0,032 | 0,22 | 0,30 |
| 15 | Schlei | 12,17 | — | — | 2,32 | 19,06 | — | 0,041 | 0,34 | — |
| 16 | » | 12,84 | 9,08 | 29,28 | 2,27 | 17,68 | 25,0 | 0,020 | 0,16 | 0,22 |
| 17 | Lachs | 20,25 | — | — | 6,86 | 33,88 | — | 2,622 | 12,95 | — |
| 18 | » | 31,84 | 22,65 | 28,86 | 10,34 | 32,48 | 45,65 | 4,281 | 13,45 | 18,90 |

Aus der Tabelle ersehen wir, dafs der Gewichtsverlust beim Dünsten ziemlich beträchtliche Schwankungen aufweist, nicht bei den einzelnen Individuen, wohl aber in derselben Art, wie z. B. der Vergleich der bei Karpfen I und Karpfen II erhaltenen Werte zeigt. Der Durchschnittswert beträgt 30,18%. Dement-

1) Dieses Archiv, Bd. XXV, S. 156.

sprechend nimmt der Trockengehalt zu, wie die Betrachtung des Stabes 8 einerseits, der Werte für die nicht gedünsteten Fische aus Stabe 7 anderseits erkennen läfst. Was zu Verlust geht, ist hauptsächlich Wasser, denn wenn wir die Werte aus der Kolumne 7 ansehen, zeigt sich, dafs der auf die Trockensubstanz entfallende Anteil an dem Verlust die Höhe von 2% nicht erreicht. Das, was von der Trockensubstanz verloren geht, besteht zu einem Teil aus den in Äther löslichen Stoffen, wie wir aus dem Stabe 10 der Tabelle sehen: so bei den fettarmen Fischen, während bei dem Lachse dies nicht der Fall ist.

Einen Einflufs des Fettgehaltes auf die Gröfse der Gewichtsabnahme lassen unsere Ergebnisse ebensowenig erkennen, wie die von Ferrati[1]).

Vergleichen wir nun unseren für die Gewichtsabnahme von Fischfleisch beim Dünsten erhaltenen Durchschnittswert von 30,18% mit den von Ferrati gewonnenen Werten, der für Rindfleisch 47,3%, für Kalbfleisch 47,3% und für Schweinefleisch 43,1% fand, so sehen wir unsere ursprüngliche Annahme bestätigt, dafs das Fischfleisch sich weniger stark zusammenzieht wie das Fleisch von Säugetieren.

Betrachten wir nun die Vorteile, welche nach unserer obigen Auseinandersetzung aus der geringeren Gewichtsabnahme folgen, so sehen wir, dafs die Ausnutzbarkeit unserer Annahme nicht widerspricht, denn Rubner[2]) gibt an, dafs von der Trockensubstanz nicht resorbiert werden in Prozenten bei gebratenem Fleisch 5,3, bei gekochtem und gebratenem Fleisch 4,9 und bei Schellfischfleisch 4,3. Bei der Schmackhaftigkeit liegt die Sache anders, da eben das Fischfleisch weit weniger schmeckende Bestandteile besitzt wie das von Säugetieren, und dadurch der Vorzug aus der leichteren Kaubarkeit verwischt wird. Jedenfalls aber geben uns unsere Resultate das Recht, Fischfleisch in allen den Fällen zu empfehlen, wo die Kauwerkzeuge möglichst geschont werden sollen, so bei Rekonvaleszenten u. a., zumal hinsichtlich des Eiweifsgehaltes das Fischfleisch sich ähnlich

1) a. a. O.

2) v. Leyden, Handbuch, 2. Aufl., I, S. 119.

verhält wie das Warmblüterfleisch (Rubner[1]). Auch müssen wir auf Grund unserer Resultate die Bestrebungen nur billigen, die darauf hinausgehen, dem Fischfleisch als Volksnahrungsmittel weiterhin Eingang zu verschaffen.

Ich habe zu Anfang bemerkt, dafs die meisten Nahrungsmittelanalysen nur auf die Rohmaterialien Bezug nehmen und möchte deshalb auf eine Arbeit von Schwenkenbecher[2]) hinweisen, der in derselben die bereits vorhandenen und ferner eigene Analysen tischfertiger Speisen zusammengestellt hat.

1) v. Leyden, Handbuch, 2. Aufl., I, S. 87.
2) Inaug.-Dissert., Marburg, 1900.

Aus dem hygienisch-bakteriolog. Laboratorium des Eidgen. Polytechnikums.
(Vorstand: Prof. Dr. O. Roth.)

# Studien über verdorbene Gemüsekonserven.

Von

Dr. **Joseph Belser,**
dipl. Chemiker.

Die meisten Gemüsearten sind bei uns nur während einer verhältnismäfsig kurzen Zeit des Jahres, in den Sommermonaten, frisch zu erhalten. Daher ist man seit frühester Zeit bemüht gewesen, durch geeignete Konservierungs-Verfahren diese Ungleichheit der Produktion, diesen zeitlichen Überfluſs und wiederkehrenden Mangel zu beheben. Aus wenig bevölkerten Gegenden lassen sich derart Nahrungsmittel in dicht bevölkerte Kulturstaaten, namentlich in groſse Städte schaffen, ohne daſs man ein Verderben derselben zu befürchten hat. Durch die Entwicklung der Konservenindustrie hat die gesamte Ernährungsfrage eine wichtige Förderung erfahren.

Zum Eintreten von Fäulnis sind drei Bedingungen erforderlich, nämlich[1]):

1. Hinreichende Feuchtigkeit.
2. Genügende Wärme.
3. Gegenwart von Mikroben oder durch solche erzeugte Fermentkörper.

1) Heinzerling, Ch., Die Konservierung der Nahrungs- und Genuſsmittel, 1884, S. 283.
König, J., Die Chemie der menschlichen Nahrungs- und Genuſsmittel, IV. Aufl., 1904, S. 512 u. 928.

Die Mittel der Konservierung bestehen nun darin, eine oder mehrere dieser Bedinguugen aufzuheben, aber zugleich dafür zu sorgen, dafs das betreffende Nahrungs- oder Genufsmittel bei der Haltbarmachung nicht leidet.

Eines der besten und zugleich am meisten angewendeten Verfahren ist im Jahre 1804 von Appert angegeben worden. Im Laufe der Zeit hat es allerdings eine Reihe von Verbesserungen erfahren. Es beruht auf dem Erhitzen der verschiedenen Nahrungsmittel unter Luftabschlufs. Letzterer wirkt nur insofern konservierend, als dadurch Fäulnisbakterien und andere Mikroben ferngehalten werden. In den Fabriken wird gegenwärtig wie folgt gearbeitet: Die sorgfältig gereinigten und einige Minuten vorgekochten Gemüse werden mit der nötigen Menge Wasser und Kochsalz in Blechdosen hineingelegt, diese verschlossen und je nach Art und Zusammensetzung der betreffenden Sorte 15—25 Minuten im Autoklaven mit gespanntem Dampfe bei 112°—117°[1]) sterilisiert, rasch herausgenommen und zur Abkühlung der ganze Inhalt in kaltes Wasser getaucht.

Das Reichsgesetz[2]) von 1887, welches die Innenverzinnung der Konservendosen auf einen maximalen Bleigehalt von 1% normierte und für die Verlötung ein Lot von höchstens 10% vorschrieb, hatte neben anderen Vorteilen auch eine gewaltige Umänderung in der Konstruktion der angewandten Dosen im Gefolge. Da die Lötung mit dem vorgeschriebenen Lote eine schwierige war, so suchte man die Zulötung der Dosen so viel wie möglich zu umgehen, und dies gab die Anregung zur Erfindung der sogenannten Falzdose. Mit dem Konserveninhalt kommt derart nur noch eine kleine, schmale Lötnat in Berührung, entsprechend der Höhe der Dose. Zur Erzielung eines hermetischen Abschlusses am Boden und Deckel der Falzdose ist das Einlegen eines Dichtungsringes aus Gummi erforderlich.

---

1) Aderhold, R., Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., 1899, S. 17—20. Konserven-Zeitung, Jahrg. 1901, S. 365.

2) Chemiker-Zeitung, Jahrg. 1891, S. 1109, Reichsgesetz, betr. den Verkehr mit blei- und zinkhaltigen Gegenständen vom 25. Juni 1887.

Da die durch Kochen konservierten grünen Gemüse meist ihre lebhafte, natürliche Farbe verändern, grau- oder braungrünmifsfarbig werden, so sucht man dem Wunsche des konsumierenden Publikums gemäfs das ursprüngliche, frische Aussehen dadurch wieder herzustellen, dafs man dem Wasser, das beim Vorkochen angewendet wird, eine geringe Menge Kupfersulfat zusetzt; so verwendet man nach Tschirch[1]) auf 60—70 kg Gemüse 30—70 g Kupfersulfat und 100 l Wasser. Nach Lehmann[2]) geschieht die Grünfärbung durch kurzes, 3—8 Minuten dauerndes Brühen in einem Kupferkessel, auf 30—40 kg Gemüse 100 l Wasser und 10—15 g Kupfersulfat.

Die geringen Mengen von Kupfer, welche nach zahlreichen Untersuchungen (Gautier[3]), Lehmann, Tschirch, Nikitin[4]) bei dieser Gelegenheit von den Gemüsen aufgenommen werden, haben jedenfalls keine konservierende Wirkung.

Nach Tschirch bildet sich bei Kupferanwesenheit das brillantgrüne Kupfersalz der bräunlichen Phyllocyaninsäure $(C_{24}H_{27}N_2O_4)_2Cu$, welches hauptsächlich die Erhaltung der grünen Farbe bedingt.

Während bis vor kurzer Zeit niemand an eine organische Vergiftung durch derartig hergestellte Konserven mit Gemüse dachte, trat die Möglichkeit einer solchen durch die bedauerlichen Vorgänge in der Darmstädter Alicenkochschule in den Vordergrund, als dort im Januar des vorigen Jahres durch den Genufs von in Salat verwendeten Bohnenkonserven von 52 Personen 21 schwer erkrankten, wovon dann 11 ihr Leben einbüfsen mufsten.

Wie die angestellte Untersuchung ergab, waren die betreffenden Bohnen in der Kochschule selbst, in Büchsen mit Gummiring, Deckel und federndem Bügel verschlossen, konser-

1) Tschirch, A., Das Kupfer. Stuttgart, 1893.

2) Lehmann, K. B., Hygienische Studien über Kupfer. Archiv f. Hygiene, Bd. 24, 1895, S. 1.

3) Gautier, E. J. Armand, Le Cuivre et le Plomb dans l'alimentation et l'industrie au point de vue de l'hygiène, Paris, 1883.

4) Nikitin, A., Das Färben der grünen Erbsen mit Kupfersalzen und ihr einfachster Nachweis. Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genufsmittel, Jahrg. 1900, S. 703.

viert worden. Beim Öffnen derselben soll nach den Angaben äufserlich keine stärkere Zersetzung aufgetreten sein; nur machte sich ein ungewöhnlicher Geruch geltend.

Aus den seither veröffentlichten Berichten und den geschilderten Krankheitssymptomen ist zu entnehmen, dafs es sich bei diesem bedauerlichen Unglücksfall nicht um eine Vergiftung mit Metallen, sondern um eine solche mit Toxinen, die als Stoffwechselprodukte von Bakterien auftraten, gehandelt hat. Dafs hierbei nicht, wie in verschiedenen Tagesblättern zurzeit behauptet wurde, ein ungenügender Kochsalzzusatz in Betracht kam, ist schon von anderer Seite[1]) genügend betont worden. Landmann[2]) gewann aus einem Stückchen Bohnensalat, das er noch in einem Kohlenkasten vorfand, durch Schütteln mit 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung und nachheriges keimfreies Filtrieren ein Gift, von dem 2 weifse Mäuse bei subkutaner Injektion von 0,5 ccm nach 24 Stunden starben. Wurde das erhaltene Filtrat kurze Zeit aufgekocht, so hatte es seine toxische Wirkung eingebüfst. Hiermit stimmt auch die Tatsache überein, dafs diejenigen, welche von dem gleichen Salat genossen hatten, der kurze Zeit auf dem heifsen Herde gestanden und derart durch Zufall ins Kochen geraten war, absolut keine schädlichen Wirkungen verspürten.

Nachdem Landmann derart die Anwesenheit eines starken, durch Kochen zerstörbaren Giftes im Bohnensalate nachgewiesen hatte, suchte er auch die Herkunft desselben festzustellen und fand als Ursache der Toxinbildung einen sporenbildenden, anaeroben Bazillus, der mit dem von van Ermengen zuerst in Schinken gefundenen Bacillus botulinus die weitgehendste Ähnlichkeit besafs. Schon öfter war derselbe als Ursache von Fleischvergiftungen erkannt worden.

Gaffky[3]), dem neben zwei leeren noch eine $1^1/_2$ kg wiegende uneröffnete, mit Bohnen gefüllte Weifsblechbüchse zur Unter-

1) Konserven-Zeitung, Jahrg. 1904, Nr. 8, S. 80.

2) Landmann, G., Über die Ursache der Darmstädter Bohnenvergiftung. Hygienische Rundschau, XIV. Jahrg., Nr. 10.

3) Gaffky, Alice-Kochschule. Darmstädter »Täglicher Anzeiger« vom 9. Februar 1904.

suchung übergeben worden war, konnte ebenfalls ein nur bei Luftabschluſs wachsendes, Buttersäure bildendes Bakterium isolieren, das kräftig wirkende Toxine bildete und, wie er sich ausdrückt, mit Bacillus botulinus »einige Ähnlichkeit« besaſs.

Auch in einigen Artikeln der »Konserven-Zeitung«[1]) wird entschieden die Ansicht vertreten, daſs es sich bei vorliegendem Unglücksfall um eine Vergiftung mit Bakterien, resp. mit Toxinen handelte, daſs aber nicht der Bacillus botulinus in Frage komme, sondern die beiden fakultativ anaeroben Proteusarten: Bacillus proteus mirabilis und Bacillus proteus vulgaris, die ja in faulenden Substanzen öfters anzutreffen sind.

Der tragische Vorfall in Darmstadt war leicht geeignet, Beängstigungen hervorzurufen und gegen die Konservennahrung Miſstrauen zu erwecken; da ja auch in den bestgeleiteten Fabriken alljährlich ein gewisser Prozentsatz der sterilisierten Gemüse zugrunde geht, was sich namentlich durch eine kräftige Gasbildung im Innern der Dose bemerkbar macht. Solche Büchsen werden in Fachkreisen ihrer veränderten Form wegen als »bombiert« bezeichnet.

Trotz einer sorgfältig ausgeübten Kontrolle seitens der Fabrik kommt es hin und wieder vor, daſs solche Konserven in die Hände des konsumierenden Publikums gelangen, indem sie etwa erst nachträglich noch bombieren können.

Es schien mir daher vom hygienischen Standpunkte aus äuſserst wichtig, derart verdorbene Gemüsekonserven näher zu untersuchen, da ja, wie auch von anderer Seite wiederholt hervorgehoben, anzunehmen war, daſs sich auch hier ähnliche toxische Wirkungen geltend machen könnten wie bei denjenigen in der Alicen-Kochschule und vielleicht bis anhin nur deshalb noch keinen Schaden bewirkt hatten, weil sie vor dem Genusse gekocht worden waren.

Der Umstand, daſs über die biologischen Eigenschaften der Zerstörer von Gemüsekonserven in der Literatur bis jetzt nur

1) Konserven-Zeitung, Jahrg. 1904, Nr. 6, 7, 8. Redakteur G. Brandau, Braunschweig.

ganz wenig bekannt ist, wahrscheinlich weil solche bombierte Dosen im Handel nur selten anzutreffen sind und für die betreffenden Forscher nur schwierig zu erhalten waren, liefs es gerechtfertigt erscheinen, diese interessanten Lebewesen, die entweder grofse Widerstandsfähigkeit gegen hohe Temperaturen haben müssen oder vielleicht erst nachträglich in die Büchsen gelangen, näher kennen zu lernen.

Das zu meinen Untersuchungen nötige Material wurde mir in zuvorkommender Weise teils von Konserven-Handlungen, zum gröfsten Teile aber von verschiedenen Fabriken zur Verfügung gestellt und gab man mir, meinem Wunsche gemäfs, möglichst solche Objekte, bei denen man glaubte, dafs die Bombage nicht auf einen Defekt der Dose, sondern auf mangelhafte Sterilisation zurückzuführen sei.

Wie aus der Literatur ersichtlich, war Aderhold[1]) der erste, der sich mit diesem Gegenstande etwas eingehender befafste. Er versuchte aus zehn verschiedenen bombierten Gemüsekonserven die Verderber zu züchten, doch gelang es ihm trotz der vielseitigsten Bemühungen nie, in den hergestellten Kulturen Wachstum zu erhalten, nach seiner Meinung, weil die betreffenden Organismen »einfach abgestorben waren«.

Wie bereits angedeutet, ist die sachbezügliche Literatur zurzeit noch eine recht spärliche. Neben der schon zitierten Arbeit von Aderhold kommt noch namentlich diejenige von K. von Wahl[2]) in Betracht.

Wie aus den kurzen interessanten Abhandlungen ersichtlich ist, hat Verfasser anfänglich selbst Konserven eingemacht und zu diesem Zwecke Karotten, Spargeln, Erbsen in Gläsern bei strömendem Dampfe sterilisiert. Trotz zweistündiger Kochdauer verdarben alle und es konnten als Zerstörer Endosporen bildende Stäbchenbakterien isoliert werden, die aber leider sonst nicht

1) Aderhold, R., Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., 1899, Bd. 5, S. 17—20.

2) K. v. Wahl, Über das Verderben der Konserven. Konserven-Zeitung, Jahrg. 1903, Nr. 11 u. 12. — Untersuchungen über Konservenverderber. Berichte der Grofsherzoglich Badischen Landwirtschaftlichen Versuchsanstalt, Augustenberg, 1902, S. 33—35 Bericht 1903, S. 35—36.

näher beschrieben wurden. Später untersuchte genannter Autor auch Fabrikkonserven, und konnte hier wieder mehrere Arten von Mikroorganismen isolieren, die zum Teil sehr widerstandsfähige Sporen zeigten, welche ein zweistündiges Kochen überdauerten. Höchst interessant ist ferner die Mitteilung, dafs die Sporen je nach dem Nährsubstrat, auf dem sie sich gebildet und dem Material, auf dem sie zur Prüfung angetrocknet wurden, an Lebensdauer einbüfsten oder gewannen. Leider gibt K. v. Wahl in beiden Notizen keine näheren biologischen Eigenschaften der gefundenen Mikroben an, doch stellt er eine ausführliche Darstellung seiner Untersuchungen in Aussicht.

Aderhold[1]) glaubt, dafs es keine für eine bestimmte Gemüseart spezifischen Zerstörer gebe, und wahrscheinlich keine »spezifischen Gemüsezerstörer überhaupt.« K. v. Wahl aber fand in gleichartigen Konserven verschiedener Herkunft oft die gleichen Verderber und in Konserven verschiedener Sorte niemals die gleichen Bakterien.

Nach letzterem Forscher würde sich somit die in Fachkreisen gehegte Ansicht bestätigen, dafs sich verschiedene Gemüsearten, unter den gleichen Bedingungen konserviert, verschieden lang halten.

Nach einer anderen von K. Kroemer[2]) erstatteten, kurzen Notiz ist zu ersehen, dafs man sich in der Versuchsanstalt Geisenheim ebenfalls mit dem gleichen Gegenstand befafst. Doch war bei Abschlufs meiner Untersuchungen eine weitere Publikation noch nicht erfolgt.

Die Redaktion der »Konserven-Zeitung« hat seit einigen Jahren in Braunschweig eine Untersuchungsstation errichtet, wo die Konservenfabriken in kürzester Zeit ihre Produkte auf Keimgehalt untersuchen lassen können. Diese Einrichtung soll sich nach Mitteilungen der Praxis sehr gut bewährt haben, indem die betreffenden Fabriken derart eine gewisse Kontrolle für ge-

1) a. a. O., S. 6.

2) Untersuchungen über die Bakterien der Obst- und Gemüsekonserven. Bericht der Königl. Lehranstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau zu Geisenheim a. Rh., 1903, S. 114—115. (Berlin bei P. Parey.)

nügende Sterilisation besitzen. Will also ein Fabrikant die Zeitdauer und die Höhe der Temperatur, die notwendig ist, um eine bestimmte Konserve sicher steril zu bekommen, genau kennen, so braucht er nur eine gewisse Anzahl verschieden lang und bei verschiedenen Drucken hergestellter Büchsen zur Untersuchung zu senden und wird die gewünschten Daten erhalten.

Die Redaktion obiger Zeitschrift berichtet in einem Aufsatze[1]), betitelt: »Nochmals die Vergiftung in Darmstadt« von Versuchen, bei denen in bombierten Büchsen einige streng anaerobe Buttersäurebazillen, ferner solche vom Kolitypus und einige unbekannte Mikroorganismen gefunden wurden.

## Bakteriologische Untersuchungen.

Die von mir vorgenommenen Untersuchungen wurden wie folgt ausgeführt: Unmittelbar vor der Probeentnahme aus einer bombierten Büchse wurde diese tüchtig geschüttelt, nach Entfernen der Etiketten mit Bürste und Seife gut gereinigt und der Deckel und die obersten Partien der Wand mittels eines Bunsenbrenners gut abgebrannt, bis zum Erkalten mit einem vorher sterilisierten Glasgefäfse bedeckt, alsdann mit einem spitzigen, mehrere Male durch die Gasflamme gezogenen, langen Eisennagel eine Öffnung in die Mitte des Deckels gebohrt.

Mit einer sterilen Wasserpipette wurde nun Flüssigkeit aus dem Innern in verschiedenen Höhenlagen herausgenommen und jedesmal folgende Kulturen damit angesetzt:

Je 1 hohe Kultur in Traubenzuckeragar mit 0,1 und 1 ccm Brühe, bei Temperaturen von 37° und 30° gehalten.

Je 2 Kulturen in Traubenzuckerbouillon mit 0,1 und 1 ccm Brühe bei 37°, 30° und 22°.

Um einen möglichst passenden Nährboden zu schaffen, verwendete ich jeweils den flüssigen Inhalt steril gebliebener Büchsen der betreffenden Gemüseart und gab jedesmal 1 ccm

1) Konserven-Zeitung, Nochmals die Vergiftung in Darmstadt, Jahrg. 1904, Nr. 8.

der zu untersuchenden Brühe in solche Röhrchen, die ich bei 37°, 30° und 22° beobachtete.

Öfters leistete mir auch ein Nährboden, hergestellt mit der Flüssigkeit einer keimfreien Dose und der nötigen Menge Gelatine oder Agar-Agar versetzt, gute Dienste.

Neben obigen Kulturen wurden noch 2 anaerobe in Traubenzuckergelatine hergestellt unter Verwendung von 0,5 ccm flüssigem Büchseninhalt. Überdies machte ich jedesmal mit einer Platinöse zwei Strichkulturen auf schiefem Agar für die Züchtung bei Bruttemperatur. Schliefslich gab ich noch je 1 ccm in zwei verflüssigte Traubenzuckergelatine und stellte damit Platten her.

War während vier Wochen kein Wachstum auf obigen Kulturen zu bemerken, so wurden sie zerstört.

Kleine Mengen des Büchseninhaltes wurden sowohl im hängenden Tropfen als auch im gefärbten Präparate jedesmal auf Bakterien mikroskopisch untersucht.

Eine jedesmalige Prüfung der betreffenden Dose auf Dichtigkeit nahm ich in der Weise vor, dafs im Deckel mit einer Blechschere eine runde Öffnung gemacht wurde, der Inhalt mit Wasser ausgespült und die Büchse durch Auflötung eines mit einem Rohrstutzen versehenen Bleches wieder verschlossen. Die derartig vorbereitete Büchse wurde hierauf in eine starke Fluoresceïnlösung gestellt, der Stutzen durch Schlauch mit einer Wasserstrahlpumpe in Verbindung gesetzt und während ca. 4 Stunden einem Vakuum von 15 mm Hg. ausgesetzt. Nach dieser Zeit wurde die Büchse herausgenommen, möglichst von Farbstoff befreit, gut abgetrocknet und in der Mitte ihrer Höhe durchschnitten. Mit Leichtigkeit war derart ein eventueller Eintritt von Farbstofflösung bzw. Undichtigkeit zu erkennen.

Die Tierversuche wurden in Gegenwart von Herrn Professor Dr. O. Roth ausgeführt. Als Versuchstiere verwendete ich weifse Mäuse, denen ich in den weitaus meisten Fällen etwas von dem unfiltrierten Inhalt bombierter Büchsen unter die Rückenhaut einspritzte. Da anfänglich Toxine in den verdorbenen Dosen vermutet wurden, so filtrierte ich in Nr. 1, 2

und 3 die Brühe durch Porzellanfilter mit der Absicht, sobald sich schädliche Wirkungen bemerkbar machen sollten, auch Tierversuche mit den isolierten Bakterien vorzunehmen.

Meistens wurden die Versuchstiere während vier Wochen beobachtet und dann seziert.

Ich lasse nun die Protokolle meiner Untersuchungen folgen:

**Büchse Nr. 1.**

Inhalt ca. 16 Monate alte, grüne Erbsen, äufserlich sehr kräftig bombiert, daher beim Öffnen eine Menge unangenehm riechende Gase; Brühe schäumt stark auf, getrübt, unansehnliche, gelbgraue Farbe.

Säureproduktion: 10 ccm Brühe erforderten zur Neutralisation 4,25 ccm $\frac{n}{10}$ Na OH.

Mikroskopischer Befund: Grofse Zahl etwa 5—6 mal so langer als dicker Stäbchen; im hängenden Tropfen stark beweglich; daneben vereinzelt lange, fadenförmig aneinandergelagerte Stäbchen. Zuweilen findet man grofse, stark lichtbrechende Sporen.

Bemerkungen: Auf den wie oben angegeben hergestellten Kulturen erhielt ich nur eine Bakterienart, die nach ihrem morphologischen, wie auch biologischen Verhalten in die Gruppe des Bacillus amylobacter van Tieghem[1]) clostridium butyricum Prazmowski gehört.

Tierversuche: Traubenzuckerbouillon mit der isolierten Bakterienart eingeimpft, wurde nach 8 Tagen filtriert, mit steriler, physiologischer Kochsalzlösung 1:4 verdünnt und zwei Mäusen subkutan injiziert: Maus Nr. 1 0,5 ccm, Maus Nr. 2 1 ccm. Tiere bleiben gesund, auch Verfütterung einer 5 Tage alten unfiltrierten Bouillonkultur ergibt ein negatives Resultat. Zwei weitere Mäuse erhielten von einer 10 Tage alten, keimfrei filtrierten Traubenzuckerbouillon: Maus Nr. 3 1 ccm, Maus Nr. 4 1 ccm; trotzdem Tiere normal. Auch die Sektion aller Tiere zeigt keine Veränderungen.

Dichtigkeit der Büchse: Dicht.

**Büchse Nr. 2.**

Enthaltend $^1/_2$ l Erbsen, 11 Monate alt; äufserlich wenig bombiert, daher beim Öffnen nur geringe Mengen Gas. Geruch und Farbe der Büchse normal, schwach getrübt.

Mikroskopischer Befund: Mehrere grofse, spindelförmige Stäbchen, ähnlich Bacillus amylobakter; vereinzelt Fäden von grofsen, dicken Stäbchen an Bacillus megatherium erinnernd; im ganzen sind viele Kokken vorherrschend.

---

1) Matzuschita, Bakteriolog. Diagnostik, 1902, S. 492.
Migula, System der Bakterien, II. Bd., S. 536.

Säureproduktion: 10 ccm Erbsenbrühe verlangten 1,05 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH.

Tierversuche: Zwei Mäuse bekamen subkutan keimfrei filtrierte Erbsenbrühe: Maus Nr. 5 0,6 ccm, Maus Nr. 6 0,4 ccm, Befinden normal.

Bemerkungen: Obschon der mikroskopische Befund auf die Anwesenheit einer grofsen Zahl von Bakterien schliefsen liefs, konnte trotz der verschiedenen Kulturen nie Wachstum erhalten werden.

Dichtigkeit der Büchse: Dicht.

### Büchse Nr. 3.

Inhalt 11 Monate alte grüne Erbsen, Boden und Deckel stark bombiert, beim Öffnen neben stark aufschäumender Flüssigkeit nach Buttersäure riechende Gase. Erbsenbrühe stark trübe, schmutzig graugrün. Im Innern der Dose an vielen Stellen grauschwarze, matte, moiréeartige Flecken von Zinnsulfid[1]).

Säuregrad: 10 ccm Brühe verlangten 2,90 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH.

Mikroskopischer Befund: Grofse Zahl Kokken oder Kurzstäbchen, vielfach kettenförmig aneinandergelagert.

Tierversuche: Zwei Mäuse erhielten subkutan keimfrei filtrierte Erbsenbrühe: Maus Nr. 7 = 0,7 ccm; Maus Nr. 8 = 0,3 ccm: Verhalten normal.

Bemerkungen: Leider läfst sich hier die Frage, durch welche Bakterienart die Bombage verursacht wurde, nicht beantworten, da die Kulturen kein Wachstum zeigten.

Dichtigkeit der Büchse: Undicht an der Lötnahtfalz.

### Büchse Nr. 4.

Inhalt ½ l Erbsen, wenig bombiert, zeigt Erscheinung des »Flatterns«; deshalb beim Öffnen wenig Gas, Flüssigkeit wenig trübe, von grangrüner Farbe. Innerlich war Zinnüberzug stark angegriffen (»mattiert«.)

Säuregrad: 10 ccm Erbsenbrühe entsprachen 3,62 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH.

Mikroskopischer Befund: Viele kurze, etwa 1,5 mal so lang als breite Stäbchen, an den Enden abgerundet; vereinzelt kommen noch schwach bewegliche, nach Gram färbbare, gröfsere, fadenförmig aneinandergelagerte Stäbchen vor. Hefezellen mit deutlichen Sprossungen sind vereinzelt anwesend.

In 1 ccm Brühe sind im Mittel 300 Keime enthalten.

---

1) Beckurts, H., Bildung von Schwefelzinn in Weifsblechbüchsen. Chemiker-Zeitung, 1889, S. 1523.

Reufs, W., Zur Chemie der Konservenfabrikation. Chemiker-Zeitung, 1889, S. 1428.

Rössing, A., Mitteilungen über das Schwarzwerden der Gemüsekonserven in Weifsblechdosen. Zeitschr. f. analyt. Chemie, 1896, Bd. 35, S. 38.

Tierversuche: Zwei Mäuse bekamen subkutan direkt entnommenen Büchseninhalt: Maus Nr. 9 = 1 ccm; Maus Nr. 10 = 1 ccm, ohne Störung im Befinden.

Bemerkungen: Aus den verschiedenen Kulturen isolierte ich zwei Mikroorganismen, nämlich: Bacillus subtilis (Ehrenberg) Cohn[1]) und eine Hefe, die traubenzuckerhaltige Nährböden rasch und kräftig vergährte.

Dichtigkeit der Büchse: Undicht, wo, war nicht mehr zu ermitteln, da zu viel Farbstofflösung eingesaugt worden war.

### Büchse Nr. 5.

Inhalt 1 l junge Bohnen, 1 Jahr alt, äufserlich wenig bombiert, Geruch der Flüssigkeit normal, Farbe graugrün, stark trübe.

Säureproduktion: 10 ccm Bohnenbrühe erforderten 3,18 $\frac{n}{10}$ NaOH.

Mikroskopischer Befund: Grofse, etwa achtmal so lange als breite, schlanke Stäbchen; viele sind gekrümmt, und da sie sich gerne fadenförmig hintereinander lagern, so erwecken sie den Eindruck eines Spirillums; nach Gram nicht färbbar.

Auf den Gelatineplatten zählte ich im Mittel pro 1 ccm Brühe 15000 Kolonien.

Morphologie der Reinkultur: Grofse, etwa achtmal so lange als breite Stäbchen, bilden gerne die genannten, gekrümmten Involutionsformen.

Gelatineplatten: Makroskopisch: Oberflächenkolonien bläulichweifs, durchsichtig; Wachstum langsam. Tiefenkolonien erscheinen als gelbe Pünktchen. Bei schwacher Vergrößerung zarter, dünner Belag; Randabgrenzung unscharf; die ganze Kolonie ist gleichmäfsig, fein gekörnt. Die tiefer liegenden sind meistens rund, auch oval, ebenfalls schwach gekörnt.

Gelatinestich: Im Stichkanal nur ganz geringes Wachstum, der dünne, zarte, oberflächliche Rand zeigt keine Ausbuchtungen; Verflüssigung tritt nie ein.

Agarstrich: Bei 30° zarter, glatter, feuchtglänzender, durchscheinender Belag.

Kartoffeln: Zarter Belag, am Rande Ausbuchtungen.

Milch: Gallertartige, gleichmäfsige Gerinnung, die nach 8 Tagen klumpig wird mit wässerigem Serum.

Traubenzuckerbouillon: Trübung nach 3 Tagen, schwache Gasbildung.

Temperaturverhältnisse: Wächst bei Zimmertemperatur langsam.

Luftbedürfnis: Fakultativ anaerob.

Tierversuche: Maus Nr. 11 = 0,6 ccm, Maus Nr. 12 = 0,3 ccm unfiltrierte Brühe subkutan; normal.

Bemerkungen: Nach diesem Befunde war mir eine Artbestimmung nicht möglich.

Dichtigkeit der Dose: Undicht am Lötstellefalz.

---

1) Matzuschita, Diagn., 1. Aufl., S. 2.

**Büchse Nr. 6.**

1 Jahr alte Erbsen, beidseitig stark bombiert, beim Öffnen Geruch nach Buttersäure; Flüssigkeit gelblichweifs, stark trübe.

Azidität: 10 ccm Brühe erforderten 4,7 ccm $\frac{n}{10}$ Na OH.

Mikroskopischer Befund: Grofse, dicke, sporenhaltige, manchmal spindelförmig angeschwollene Stäbchen, zeigen Grannlosereaktion, bewegen sich lebhaft.

Tierversuche: Maus Nr. 13 = 0,3 ccm, Maus Nr. 14 = 0,5 ccm unfiltrierter Brühe, subkutan, ohne Wirkung.

Bemerkungen: Diese Bakterienart stimmt morphologisch, wie auch biologisch mit der in Büchse Nr. 1 gefundenen überein.

Dichtigkeit der Dose: Dicht.

**Büchse Nr. 7.**

Inhalt grüne Bohnen, 1 Jahr alt, wenig bombiert, Flüssigkeit schwach trübe, Geruch normal.

Säureprodnktion: Für 10 ccm Brühe waren 6,2 ccm $\frac{n}{10}$ Na OH erforderlich.

1 ccm Brühe enthielt im Mittel 400 Keime.

Mikroskopischer Befund: Kurze, dicke, 2—3 mal so lang als breite Stäbchen mit abgerundeten Enden, nach Gram nicht färbbar; sie sind lebhaft beweglich.

Gelatineplatten: Makroskopisch: Nach 3 Tagen gelblichweifse, punktförmige Kolonien; bei schwacher Vergröfserung durchscheinende, körnige Struktur.

Gelatinestich: Wachstum bis in die Tiefe des Stichkanales, oberflächlich zarter, gelblichweifser Belag.

Agarstrich: Schwach gelbliche, feuchtglänzende Auflagerung.

Kartoffeln: Feuchtglänzender, zitronengelber Belag.

Traubenzuckerbouillon: Nach 48 Stunden starke Trübung; schwache Gasentwicklnng; Nährböden aus Bohnen werden ebenfalls schwach vergärt.

Temperatnrverhältnisse: Wächst bei 30° am besten.

Tierversuche: Maus Nr. 15 = 0,6 ccm, Maus Nr. 16 = 0,3 ccm subkutan unfiltrierter Bohnenbrühe; keine Wirkung.

Bemerknngen: Identifizierung mit einer schon beschriebenen Bakterienart war mir nicht möglich.

Dichtigkeit der Büchse: Undicht, an Berührungsstelle Lötnat und Falz.

**Büchse Nr. 8.**

Inhalt junge Erbsen, 1 Jahr alt, stark bombiert, beim Öffnen widerlich riechende Gase, Flüssigkeit schäumt stark auf, trübe, grangrün. Innerlich zeigt Büchse vielerorts Belag von Schwefelzinn.

Azidität: 10 ccm Erbsenbrühe verlangten 4,73 ccm $\frac{n}{10}$ Na OH.

Mikroskopischer Befund: Mittellange dicke Stäbchen mit abgerundeten Enden, neben kurzen, dicken, die sich nach Gram färben.

Tierversuche: Maus Nr. 17 = 0,6 ccm unfiltrierte Brühe, subkutan, Maus Nr. 18 mit ebensolcher Brühe gefüttert; Maus Nr 19 = 0,3 ccm keimfrei filtrierter Erbsenbrühe subkutan. Befinden aller Tiere normal.

Bemerkungen: Trotz verschiedener Kulturen, auch auf solchen mit Erbsen, kein Wachstum.

Dichtigkeit der Dose: Dicht.

### Büchse Nr. 9.

Inhalt Wachsbohnen, 1 Jahr alt, wenig bombiert, daher nur wenig Gas beim Öffnen; Flüssigkeit schwach trübe, sonst normal.

Säureproduktion: 10 ccm Bohnenbrühe erforderten 1,34 ccm $\frac{n}{10}$ Na OH.

Mikroskopischer Befund: Lange, dünne, schwachgebogene, manchmal spirillenförmig angeordnete Stäbchen, wahrscheinlich sind es Involutionsformen. Daneben vereinzelt noch kurze, dicke Stäbchen.

Tierversuche: Maus Nr. 20 = 0,2 ccm, Maus Nr. 21 = 0,7 ccm unfiltrierter Brühe subkutan; normal.

Kulturversuche: Sowohl aerob als auch anaerob in den verschiedenen Nährböden kein Wachstum.

Dichtigkeit der Dose: Undicht, wo, war nicht zu ermitteln.

### Büchse Nr. 10.

1 Jahr alte Erbsen, sehr kräftig bombiert, beim Öffnen heftige Gasentwicklung, Flüssigkeit stark trübe, säuerlich.

Azidität: 10 ccm erforderten zur Neutralisation 5,52 ccm $\frac{n}{10}$ Na OH.

Mikroskopischer Befund: Kurze, etwa 2—4mal so lange als breite Stäbchen in grofser Zahl, an den Enden abgerundet, häufig reihenförmig angeordnet; lebhaft beweglich. Es scheint sich nur um eine einzige Art zu handeln.

Bemerkungen: Alle durch die Kulturen erhaltenen Merkmale, auch die Widerstandsfähigkeit lassen auf Identität dieser Bakterienart mit Bacillus brassicae acidae[1]) schliefsen, der zuerst von Conrad als ein Erreger der Sauerkrautgärung erkannt worden war.

Tierversuche: Subkutan Maus Nr. 23 = 0,5 ccm; Maus Nr. 24 = 0,9 ccm direkt entnommener Brühe; Verhalten normal.

Dichtigkeit der Büchse: Dicht.

---

1) Matzuschita, Diagn. S. 318. — Migula, System d. Bakt. II, S. 737.

**Büchse Nr. 11.**

Inhalt 13 Monate alte Erbsen, auf beiden Seiten kräftig bombiert; beim Öffnen eine grofse Menge unangenehm riechende Gase neben schmutzig graugrüner stark aufschäumender Brühe.

Säuregrad: 10 ccm Brühe erforderten 3,45 ccm $\frac{n}{10}$ Na OH.

Mikroskopischer Befund: Kurze, dicke Stäbchen von lebhafter Beweglichkeit, neben vereinzelten Hefezellen und Langstäbchen, die an Kartoffelbazillen erinnern.

Durch die Kultur konnte nur eine einzelne Art isoliert werden, die folgende Eigenschaften zeigt:

Morphologisches Verhalten: Kurze, 2—4mal so lang als breite Stäbchen, Gram positiv.

Gelatineplatten: Nach 2 Tagen oberflächliche Kolonien stark entwickelt, einzelne mit gelber Färbung. Mikroskopisch um das lichtere Zentrum radiäre Fasern, nach gekerbtem, stark glänzenden Rande zu erkennen. Früh zeigt sich um die Kolonie herum eine verflüssigte Zone von gelber Farbe. Kleinere Kolonien haben ein gegen gekerbten Rand verlaufendes Liniensystem. Auf Erbsengelatine entwickeln sich Kolonien in gleicher Weise, aber langsamer.

Gelatinestich: Wachstum bis in die Tiefe des Impfstiches; an der Oberfläche flach ausgebreitete, zitronengelbe Auflagerung; bald beginnt die Verflüssigung, zuerst schreitet sie gegen die Glaswand vor und greift dann erst in die Tiefe; in der verflüssigten Gelatine entsteht ein gelber, flockiger Niederschlag.

Agarstrich: Gelblichweisse, feuchtglänzende Auflagerung mit feinen Einbuchtungen am Rande.

Kartoffeln: Gelbe, glänzende Anflagerung mit kräftigen Ausbuchtungen am Rande.

Bouillon: Nach 24 Stunden Trübung; später bildet sich eine gelblich gefärbte Kahmhaut.

Gasentwicklung: Traubenzuckerhaltige Nährböden werden rasch und kräftig vergärt; solche aus Erbsen weniger rasch.

Temperaturverhältnisse: Wächst bei Zimmer- und Bruttemperatur.

Schnelligkeit des Wachstums: Wächst rasch.

Farbenproduktion: Erzeugt bei Luftzutritt einen gelben Farbstoff.

Sporenbildung: Bildet mittelständige Sporen, die aber an Seidenfäden angetrocknet 20 Minuten strömenden Dampf nicht aushalten.

Peptonwasser: Trübt sich stark und gibt die Indolreaktion.

Lufthedürfnis: Fakultativ anaeroh.

Tierversuche: Maus Nr. 25 = 0,6 ccm, Maus Nr. 26 = 0,8 ccm subkutan, ohne Störungen.

Bemerkungen: Eine Arthestimmung war mir nicht möglich.

Dichtigkeit der Büchse: Dicht.

**Büchse Nr. 12.**

3 Monate alte grüne Schmalzbohnen, nur ganz wenig bombiert; die Brühe war stark trübe, von gelblichweifser Farbe, sonst normal. Innerlich war die Büchse an sehr vielen Stellen stark angegriffen.

Azidität: 10 ccm Bohnenbrühe verlangten 8,66 ccm $\frac{n}{10}$ Na OH.

Mikroskopischer Befund: Grofse Zahl langer, schlanker Stäbchen, neben kürzeren, dicken, die sich nach Gram färben

Tierversuche: Zwei weifse Mäuse erhielten subkutan folgende Mengen unfiltrierter Bohnenbrühe:

Maus Nr. 27 = 0,5 ccm, Maus Nr. 28 = 1,0 ccm; trotzdem keine Veränderungen.

Kulturversuche: Alle fielen negativ aus; auch solche auf Bohnennährböden, was wohl zum Schlusse berechtigt, dafs diese Organismen abgestorben waren.

Dichtigkeit der Büchse: Undicht am Falze.

**Büchse Nr. 13.**

Enthaltend ca. 4 Monate alte, gemischte Gemüse, wenig bombiert: Flüssigkeit nur schwach getrübt.

Säureproduktion: 10 ccm Brühe verlangten 1,79 ccm $\frac{n}{10}$ Na OH.

Mikroskopischer Befund: Kurze, dicke, an den Enden abgerundete Stäbchen von lebhafter Bewegung.

In 1 ccm Brühe wurden im Mittel 14 Kolonien gezählt.

Gelatineplatte: Makroskopisch: Oberflächenkolonien meistens rund, mattweifs, glänzend, mit bläulichem Schimmer, gewöhnlich zentralem Kern, Rand scharf und zeigt eine schon makroskopisch leicht zu erkennende Buchtung. Mikroskopisch sind tiefer liegende Kolonien gelblich, scharf umgrenzt; oberflächliche haben am Rande starke Furchungen, um das hellgelbe Zentrum verläuft ein System konzentrischer Kreise.

Gelatinestich: Wachstum bis in die Tiefe des Stichkanales, oberflächlich zarter, ausgebuchteter Belag.

Agarstrich: Weifse, feucht glänzende Auflagerung, am Rande schwach ausgebuchtet.

Kartoffeln: Feuchtglänzender, bräunlichgelber Belag.

Traubenzuckerbouillon: Starke Trübung, weifser Bodensatz, Gasentwicklung (auch Nährböden von Erbsen), Indolreaktion positiv.

Temperaturverhältnisse: Wächst rasch und üppig bei Zimmertemperatur, bei 37° kümmerlich.

Milch: Wird koaguliert.

Tierversuche: Maus Nr. 29 = 0,6 ccm, Maus Nr. 30 = 0,6 ccm direkter Brühe, subkutan, normales Verhalten.

Bemerkungen: Artbestimmungen nicht möglich. Plattenwachstum erinnert an die Koligruppe, gegen dieses spricht aber mangelhaftes Wachstum bei 37°.

Dichtigkeit der Büchse: Undicht bei Lötnatfalz.

**Büchse Nr. 14.**

Inhalt grüne Erbsen 5 Monate alt, stark bombiert, daher kam beim Öffnen Flüssigkeit unter starkem Aufschäumen hervor.

Azidität: 10 ccm Erbsenbrühe verbrauchten 2,68 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH.

Bemerkungen: Morphologisch und biologisches Verhalten genau gleich wie der in Nr. 13 beschriebene Bazillus.

Tierversuche: Maus Nr. 31 = 0,2 ccm; Maus Nr. 32 = 0,5 ccm subkutan, der unfiltrierten Brühe; normal.

Dichtigkeit der Büchse: Undicht an Lötnat und Falz.

**Büchse Nr. 15.**

Inhalt Schmalzbohnen, stark bombiert, unangenehm riechende Gase beim Öffnen; Flüssigkeit stark trübe, mifsfarbig.

Säureproduktion: 10 ccm Bohnenbrühe verlangten 5,74 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH zur Neutralisation.

Mikroskopischer Befund: Zweimal so lange als breite Stäbchen neben vereinzelten Hefezellen und Langstäbchen.

1 ccm Bohnenbrühe enthielt im Mittel 3500 Keime.

Aus dieser Büchse konnte nur eine Art isoliert werden:

Morphologisches Verhalten: Kurze, dicke, an den Enden abgerundete, nach Gram färbbare Stäbchen, träge beweglich.

Gelatineplatten: Ohne Vergrößerung: Die oberflächlichen Kolonien erreichen nach 3 Tagen einen Durchmesser von 1—2 mm; später vergrößern sie sich nur noch wenig, sie sind rein milchweifs und ragen knopfartig über die Gelatine heraus. Bei schwacher Vergrößerung ist nichts besonderes zu erkennen.

Gelatinestich: Wachstum bis in die Tiefe des Kanals; der Stich erscheint am Rande fein gezähnt, oben sind nach einer Seite kleine, perlmutterglänzende Ausläufer.

Agarstrich: Zarter, weifser Belag, der Länge nach gestreift.

Kartoffein: Kein Wachstum.

Bonillon: Wird getrübt, weifser Bodensatz.

Gasentwicklung: Zuckerhaltige Nährböden werden vergärt, auch solche mit Bohnen hergestellte.

Temperaturverhältnisse: Wächst gut bei Zimmertemperatur, bei 37° gar nicht.

Tierversuche: Maus Nr. 33 = 0,6 ccm; Maus Nr. 34 = 0,8 ccm direkter Brühe, subkutan; normal.

Bemerkungen: Eine Identifizierung war nicht möglich.

Dichtigkeit der Dose: Dicht.

**Büchse Nr. 16.**

Inhalt 1 i 5 Monate alte Bohnen, kräftig bombiert, beim Öffnen nur wenig Gas, Flüssigkeit stark trübe.

Azidität: 10 ccm entsprachen 8,40 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH.

Mikroskopischer Befund: Überwiegend kurze, dicke Stäbchen, neben vereinzelten Langstäbchen; erstere gering beweglich.

Tierversuche: Maus 35 nnd 36 wurde 0,5, resp. 0,6 ccm unfiltrierter Brühe injiziert; letztere wurde später noch mit ebensolcher Brühe gefüttert; beide Tiere bleiben normal.

Bemerkungen: Die erhaltene Reinkultur hatte morphologisch, wie auch biologisch die gleichen Eigenschaften wie diejenige in Büchse Nr. 15 vorgefundene.

Dichtigkeit der Büchse: Undicht, wo, nicht zu ermitteln.

**Büchse Nr. 17.**

5 Monate alte Erbsen, kräftig bombiert; beim Öffnen unangenehm riechende Gase; Flüssigkeit schäumt stark auf, schmutzig, graugrün.

Säuregrad: 10 ccm Erbsenflüssigkeit erforderten 2,35 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH.

Mikroskopischer Befnnd: Nnr eine Art von Bakterien nachweishar, zwei bis vier mal so lange als breite Stäbchen, Enden abgerundet, Gram positiv, lebhaft beweglich.

In Übereinstimmung damit könnte nur eine Art isoliert werden.

Gelatineplatten: Die oberflächlichen Kolonien sind stark erhaben. Mitte Kern, perlmutterglänzend, weifsgran. Mikroskopisch Rand scharf, Kolonien stark gefurcht durch eine Menge radiärer Strahlen, gegen Peripherie hin sich verästelnd; ganze Kolonie schwach gekörnt.

Agarplatten: Koliähnliche Kolonien.

Gelatinestich: Wachstnm his in die Tiefe des Stichkanals, Rand gezähnt, oberflächlich feucht glänzende, ausgebuchtete Anflagernng.

Agarstrich: Kräftiger, dicker, gelhlichweifser Belag.

Kartoffeln: Dicke, wurzelähnlich verzweigte, gelhe his grauweifse Anflagerung.

Trauhenzuckerbouillon: Starke Trübung mit Häutchen, Indolreaktion positiv; kräftige Gasentwicklung (aus erbsenhaltigen Nährböden ebenfalls).

Milch: Wird koaguliert, keine Serumabscheidung.

Temperaturverhältnisse: Wächst bei 22—30° rasch nnd am besten.

Sporenhildung: Bildet mittelständige Sporen, Stäbchen schwellen hierbei tonnenförmig an.

Tierversuche: Maus Nr. 37 = 0,9 ccm; Maus Nr. 38 = 0,8 ccm snbkutan unfiltrierter Brühe; keine Veränderungen.

Beuerkungen: Identifizierung nicht möglich, scheint in die Koligruppe zu gehören.

Dichtigkeit der Büchse: Undicht, wahrscheinlich durch kräftige Bombage.

**Büchse Nr. 18.**

Inhalt 4 Monate alte Wachsbohnen, stark bombiert; daher kam beim Öffnen Flüssigkeit zum Vorscheiu, stark getrübt.

Azidität: 10 ccm Bohnenbrühe verlangten 6,17 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH.

Mikroskopischer Befnnd: Kurze, dicke Stäbchen mit abgerundeten Enden, mäfsig beweglich, offenbar derselben Art angehörend.

In 1 ccm Brühe sind im Mittel 10000 Keime enthalten.

Gelatineplatten: Makroskopisch: Oberflächenkolonien hiiden nach 3 Tagen gelblichweifse Pnnkte, sich mehr und mehr verfärbend, his sie schliefslich goldgelh werden. Mikroskopisch meistens kreisrund, Rand scharf, Zentrnm etwas dnnkler, ganze Kolonie gekörnt.

Agarplatten: Kieineu, gelben Kolonien sind groh gekörnt, in der Mitte etwas dnnkler; Rand unscharf.

Gelatinestich: Wachstum his in die Tiefe des Stichkanals; oberflächlich leichter, gelber Belag mit schwachen Furchnngen.

Kartoffeln: Kräftiger, feuchtglänzender, goldgelber Belag; Rand ansgebuchtet, stellenweise korallenartige Ausläufer.

Traubenzuckerbouillon: Trühung, gelhe Hant; später wird ganze Flüssigkeit gelb, Gasbildung; Kultureu in Bohnenhrühe entwickeln ebenfails Gas, auch geibe Hant

Dieses Bakterium greift Bohnen an, indem Epidermis eine Menge Blasen zeigt.

Milch: Koaguliert, peptonisiert; Serum färht sich geib.

Temperaturverhältnisse: Wächst rasch hei 22—30°, bei 37° nur schlecht.

Lufthedürfnis: Fakultativ anaerob; hei Luftahschlufs kein gelber Farbstoff.

Tierversuche: Maus Nr. 39 = 0,4 ccm; Maus Nr. 40 = 0,8 ccm direkter Brühe, ohne schädliche Wirkung.

Bemerkungen: Einige Merkmale (Farbstoffbildung, Morphologie, Pathogenität für Bohnen) lassen anf Identität mit Bacillns phaseoli, Smith, schliefsen. Leider sind die Angaben in den mir zugänglichen Werken[1]) nnr sehr kurz gehalten.

Büchse dicht.

**Büchse Nr. 19.**

5 Monate alte Erbsen, schwach bomhiert, Flüssigkeit wenig trübe.

Säureprodnktion: 10 ccm Brühe entsprachen 5,5 ccm $\frac{n}{10}$ Na OH.

Mikroskopischer Befund: Viele mittelgrofse, dicke Stähchen, Eindruck von Involutionsformen.

Tierversuche: Maus Nr. 41 = 0,2 ccm; Mans Nr. 42 = 0,7 ccm unfiltriert, snbkutan; normal.

Bemerknngen: Alie Kulturversnche negativ; Artbestimmung daher nnmöglich.

Dichtigkeit der Büchse: Dicht.

---

1) Matznschita, Diagnostik, S. 348.
Migula, System d. Bakterien, II. Bd., S. 776.

**Büchse Nr. 20.**

½ l Bohnen, 4 Monate alt, sehr stark bombiert; beim Öffnen viel Gas, Flüssigkeit schäumt stark auf, trübe.

Säureproduktion: 10 ccm erforderten 1,79 ccm $\frac{n}{10}$ Na OH.

Mikroskopischer Befund: Grofse Zahl Stäbchen von wechselnder Länge, aber gleicher Dicke, mäfsig beweglich, nach Gram nicht färbbar. Im Mittel wurden in 1 ccm Brühe 350 Kolonien gezählt.

Gelatineplatten: Nach 2 Tagen erreichen die oberflächlichen Kolonien eine Gröfse von 2—3 mm. Dünner, weifser, durchsichtiger Belag. Unter dem Mikroskop groh gekörnt, Rand scharf, ausgebuchtet, nach einigen Tagen am Rande schwache Verflüssigung.

Agarplatten: Mikroskopische Tiefenkolonien am Rande Strahlenkranz, oberflächlicher, weifser, dünner, durchsichtiger Belag.

Kartoffeln: Kräftiger, stark erhabener, anfänglich gelbbrauner, später fleischfarbener Belag mit Ausbuchtungen.

Traubenzuckerbouillon: Stark getrübt, Häutchen, lockeres Sediment, Indolreaktion +; starke Gasentwicklung (auch Milchzuckerglyzerin, Erbsen- und Bohnennährböden).

Sporenbildung: Mittelständige Sporen, sporenhaltiges Material an Seidenfäden hält 20 Minuten Dampf nicht aus.

Gelatinestich: Leichter Belag, später trichterförmige Verflüssigung.

Temperaturverhältnisse: Wächst bei Zimmertemperatur etwas langsamer, bei Bruttemperatur hingegen sehr rasch.

Milch: Koaguliert, peptonisiert, aromatischer Geruch.

Tierversuche: Maus Nr. 43 = 0,8 ccm; Maus Nr. 44 = 0,7 ccm subkutan, direkte Brühe; keine Veränderungen.

Bemerkungen: Identifizierung nicht möglich.

Büchse undicht; scheint durch starken Gasdruck im Innern aufgerissen worden zu sein.

**Büchse Nr. 21.**

5 Monate alte Bohnen, sehr wenig bombiert; Flüssigkeit schwach trübe.

Säureproduktion: 10 ccm Brühe erforderten 1,05 ccm $\frac{n}{10}$ Na OH.

Mikroskopischer Befund: Wenige, lange, schlanke Stäbchen, vielfach fadenförmig angeordnet.

Tierversuche: Maus Nr. 45 = 0,2 ccm, Maus Nr. 46 = 0,4 ccm Brühe, subkutan, ohne Wirkung.

Bemerkungen: Morphologie, wie auch Biologie der gezüchteten Reinkultur liefsen auf Identität mit Bacillus mycoides Flügge[1]) schliefsen.

Büchse dicht.

---

1) Matznschita, Diagnostik, S. 150.
Migula, System d. Bakterien, Bd. II, S. 527.

**Büchse Nr. 22.**

6 Monate alte Erbsen, kräftig bombiert, heftige Gasentwicklung, Flüssigkeit tritt unter starkem Aufschäumen heraus; stark trübe.

Säureproduktion: 10 ccm Brühe verlangten 2,98 ccm $\frac{n}{10}$ Na OH.

Mikroskopischer Befund: Viele kurze, dicke Stäbchen, an den Enden abgerundet, gerne fadenförmig aneinander gelagert, Gram negativ.

Tierversuche: Maus Nr. 47 = 0,6 ccm, Maus Nr. 48 = 0,3 ccm unfiltrierte Brühe, subkutan; keine Störungen wahrzunehmen.

Bemerkungen: Aus den verschiedenen Kulturen ergab sich Identität mit dem in Büchse Nr. 10 schon gefundenen Bacillus brassicae acidae.

Büchse dicht.

**Büchse Nr. 23.**

Inhalt 6 Monate alte Erbsen, schwach bombiert, Flüssigkeit wenig getrübt.

Säuregrad: 10 ccm Brühe erforderten 5,5 ccm $\frac{n}{10}$ Na OH.

Mikroskopischer Befund: Grofse Zahl kurze, dicke, an den Enden abgerundete, nach Gram schlecht färbbare, wenig bewegliche Stäbchen. Vereinzelt kommen noch Langstäbchen vor.

Tierversuche: Maus Nr. 49 = 0,2 ccm, Maus Nr. 50 = 0,3 ccm unfiltrierter Flüssigkeit, subkutan; keine Veränderungen.

Bemerkungen: Aus allen Kulturen konnte ich nur eine Bakterienart isolieren, die ich mit Bacillus acidi lactici Hueppe[1]) identisch erklären möchte.

Büchse dicht.

**Büchse Nr. 24.**

Inhalt Erbsen, Alter unbestimmt, wenig bombiert, zeigt »Flattern«. Brühegeruch nach Buttersäure, grangrün, trübe.

Säureproduktion: 10 ccm Brühe erforderten 2,94 ccm $\frac{n}{10}$ Na OH.

Mikroskopischer Befund: Kurze, dicke Stäbchen mit abgerundeten Enden; vereinzelt auch Hefezellen.

Tierversuche: Maus Nr. 51 = 0,8 ccm, Maus Nr. 52 = 0,2 ccm unfiltrierter Brühe, subkutan; normaler Befund.

Bemerkungen: Auf allen Kulturen konnte kein Wachstum konstatiert werden.

Büchse dicht.

**Büchse Nr. 25.**

6 Monate alte Bohnen, kräftig bombiert; Flüssigkeit schäumt stark auf, starke trübe, Geruch normal.

Säuregrad: 10 ccm Brühe entsprachen 1,57 ccm $\frac{n}{10}$ Na OH.

---

1) Matzuschita, Diagnostik, S. 370.
Migula, System d. Bakterien, II. Bd., S. 327.

Mikroskopischer Befnnd: Grofse Zahl lange, ziemlich dicke, an den Enden schwach abgerundete, etwa 4—8 mal so lang als breite Stäbchen, reihen sich gerne fadenförmig aneinander, nach Gram nicht oder nur schlecht färbbar; zeigen keine Bewegung.

Es konnte hier nur eine einzelne Art isoliert werden.

Gelatineplatten: Makroskopisch und mikroskopisch coliähnlich.

Gelatinestich: Wachstum bis in die Tiefe, oberflächlich dünne, zarte Auflagerung, Perlmutterglanz; Verflüssignng tritt nie ein.

Agarstrich: Fenchter, weifser Belag, Rand ausgebuchtet, am Rande dünner und heller, in der Mitte Querstreifung.

Kartoffeln: Coliähnliches Wschstum.

Trauhenzuckerhouillon: Lebhafte Trübnng mit Häntchen, weifses Sediment; Indolreaktion +; starke Gasbildung (anch in bohnenhaltigen Nährböden).

Milch: Koagnliert.

Sporenhildung: Endogene, stark lichtbrechende Sporen; sporenhaltiges Material hält an Seidenfäden angetrocknet 10 Minnten strömenden Dampf nicht mehr aus.

Temperaturverhältnisse: Wächst gut hei Zimmertemperatur; bei 37° schon nach 10 Stnnden kräftiger Belag anf schiefem Agar.

Tierversnche: Maus Nr. 53 = 0,5 ccm; Mans Nr. 54 = 0,3 ccm subkutan, unfiltrierte Brühe; normales Befinden.

Bemerkungen: Artbestimmnng nicht möglich, morphologisch gleich wie die in Büchse Nr. 12 gefundene Bakterienart.

Büchse dicht.

**Büchse Nr. 26.**

Spinat, Alter unbestimmt, wenig hombiert; beim Öffnen Buttersäuregernch; innerlich Flecken von Schwefelzinn.

Azidität: 10 ccm Brühe verlangten 3,66 ccm $\frac{n}{10}$ Na OH.

Mikroskopischer Befund: Lange, schlanke Stäbchen, 4—8 mal so lang als hreit, scheinen schwach gekörnt, znweilen fadenförmig angeordnet; nach Gram teilweise färbbar; viele gekrümmt, wahrscheinlich Involntionsformen, einige sind mäfsig heweglich; daneben kommen noch schlanke, 6—10 mal so lang als breite Stäbchen, Grampositive, ebenfalls fadenförmig angeordnete Stäbchen vor.

Tierversnche: Maus Nr. 55 = 0,7 ccm; Maus Nr. 56 = 0,4 ccm direkt entnommene Brühe, suhkutan, normales Verhalten.

Bemerkungen: Aus den erhaltenen Kultnren konnte ich zwei Mikroorganismen isolieren, nämlich den schon in Büchse Nr. 25 gefnndenen und beschriehenen coliähnlich wachsenden Bazillns nnd Bacillns bntyricus[1]) Botkin. Bei letzterem konnte einzig kein Wachstum auf Kartoffeln erhalten werden.

Blechdose dicht.

---

1) Matznschita, Diagn. S. 250.

**Büchse Nr. 27.**

Gemischte Gemüse, wenig bombiert, zeigt »Flattern«, 8 Monate alt. Flüssigkeit stark trübe.

Aziditat: 10 ccm Brühe verlangten 0,58 ccm $\frac{n}{10}$ Na OH.

Mikroskopischer Befnnd: Lange, plnmpe Stäbchen, fadenförmlg angeordnet.

Tierversnche: Mans Nr. 57 = 0,2 ccm; Maus Nr. 58 = 0,4 ccm subkutan direkter Brühe; normales Verhalten.

Bemerknngen: Die Knltnrversnche ergaben zwei Mikroorganismen; nämlich Bacillns mycoides (Wurzel- oder Erdhazillns) und einen Schimmelpilz, zn dsn Penicilllumarten gehörend.

Büchse undicht, an Lötnat und Falz.

**Büchse Nr. 28.**

Inhalt Wachsbohnen, nicht bombiert, zeigt das »Flattern«; Gernch der Flüssigkeit normal, wenig getrübt.

Sänreprodnktion: 10 ccm Brühe erforderten 3,66 ccm $\frac{n}{10}$ Na OH.

Mikroskoplscher Befnnd: Grofse, 3—5 mal so lang als breite Stäbchen, fadenförmig; daneben sind vereinzelt fsine dünne Stäbchen zu erkennen, die leicht beweglich slnd.

Tierversnche: Mans Nr. 59 = 1,0 ccm; Maus Nr. 60 = 0,3 ccm nnfiltrierter Brühe, snbkntan; Befinden normal.

Bemerknngen: Auf den wie früher angegebenen Knlturen konnte ich hier drei Mikroorganismen in Reinkulturen isolieren, nämlich: Bacillus fluorescens liqnefacieus,[1]) Bacillns subtilis und ein zu den Penicilliumarten gehörender Schimmelpilz.

Büchse stark nndicht, wo, war nicht zu ermitteln.

**Büchse Nr. 29.**

1½ Jahre alte Erbsen, sehr stark bombiert; beim Öffnen neben einer Menge nach Buttersäure riechender Gase, heftig aufschänmende Flüssigkeit, mifsfarbig, trübe. Innerlich hat Dose viele matte, dunkelgrane Flecken.

Aziditat: 10 ccm Erbsenbrühe erforderten 2,36 ccm $\frac{n}{10}$ Na OH.

Mikroskopischer Befnnd: Lebhaft beweglche, stark lichtbrechende Sporen besitzende, manchmal splndelförmig angeschwollene 5—6 mal so lang als dicke Stäbchen; schlecht färbbar, besser, wenn sie mit Chloroform behandelt werden; Bazillen sind gekörnt, geben sog. Granulosereaktion.

Tierversnche: Maus Nr. 61 = 0,6 ccm; Maus Nr. 62 = 0,7 ccm direkt entnommene Erbsenbrühe, snbkutan, ohne Wirkung.

Bemerknngen: Knlturen ergaben Identität mit dem in Büchse Nr. 1 schon gefundenen Bacillus amylobacter.

Büchse war dicht.

---

1) Elsenberg, Diagn., III. Anfl. S. 112. — Matzuschita, Diagn., S. 132.

**Büchse Nr. 30.**

Inhalt 18 Monate alte Erbsen, stark bombiert; heftige Gasentwicklung, starkes Aufschäumen der Flüssigkeit beim Öffnen; Brühe gelbgrau, mifsfarbig, stark trübe.

Säureproduktion: 10 ccm Erbsenbrühe erforderten 5,85 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH.

Mikroskopischer Befund: Kurze, plumpe, an den Enden abgerundete Stäbchen; zu zweien oder auch zu vieren fadenförmig aneinandergelagert; nach Gram nicht oder nur schlecht färbbar; lebhaft beweglich.

Tierversuche: Maus Nr. 63 = 0,8 ccm; Maus Nr. 64 = 0,8 ccm unfiltriert, subkutan, ohne Störungen.

Bemerkungen: Morphologisch und biologisch identisch mit dem in Büchse Nr. 23 schon gefundenen Bazillus

Büchse undicht; wahrscheinlich wurde durch den starken Gasdruck im Innern diese Undichtigkeit erzeugt, indem Falz wenig anfgerissen war.

**Büchse Nr. 31.**

1½ Jahre alter Rosenkohl, sehr stark bombiert; Flüssigkeit säuerlich, stark trübe; Blechdose im Innern an vielen Stellen mit grauschwarzen Flecken bedeckt.

In 1 ccm Brühe wurden im Mittel 52 Keime gezählt.

Tierversuche: Maus Nr. 65 = 0,6 ccm; Maus Nr. 66 = 0,8 ccm unfiltrierte Brühe, subkutan; Verhalten normal.

Bemerkungen: Der mikroskopische Befnnd, wie auch die angesetzten Kulturen, ergaben die gleiche Bakterienart wie die in Büchse Nr. 23, resp. 30 schon gefundene.

Dose war dicht.

**Büchse Nr. 32.**

7 Monate alte Bohnen, äufserst kräftig bombiert; Flüssigkeit war grau grün, trübe; Gernch normal.

Säuregrad: 10 ccm Brühe erforderten 2,71 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH.

Mikroskopischer Befnnd: 4—8mal so lange als breite Stäbchen, Gramnegativ.

Tierversuche: Maus Nr. 67 = 0,5 ccm; Maus Nr. 68 = 0,5 ccm subkutan, direkt entnommene Brühe; Befinden normal.

Bemerkungen: Morphologische und biologische Eigenschaften (auf den verschiedensten Nährböden) sprechen für Identität mit dem in Büchse Nr. 25 schon beschriebenen Mikroorganismus.

Büchse undicht, doch, wie leicht zu erkennen ist Falz durch den grofsen Gasdruck im Innern aufgerissen worden.

**Büchse Nr. 33.**

Erbsenpüree, 8 Monate alt, sehr kräftig bombiert; beim Öffnen Gernch nach Buttersäure.

Tierversuche: Gleiche Mengen Erbsenpüree mit Bouillon geschüttelt, absetzen gelassen und von dieser Flüssigkeit zwei Mäusen folgende

Mengen injiziert: Maus Nr. 69 = 0,5 ccm; Maus Nr. 70 = 0,7 ccm; keine pathogene Wirkung.

Bemerkungen: Mikroskopischer Befund und Verhalten auf den verschiedenen Nährmedien sprechen für Identität mit dem in Büchse Nr. 1 schon gefundenen Bacillus amylobacter.

Büchse undicht; auch durch grofsen Gasdruck im Innern am Falz aufgerissen.

**Büchse Nr. 34.**

Bohnen, 7 Monate alt, sehr stark bombiert; Flüssigkeit stark trübe.

Säureproduktion: 10 ccm Brühe erforderten im Mittel 3,78 ccm $\frac{n}{10}$ Na OH.

Im Mittel sind in 1 ccm Brühe 3200 Keime enthalten.

Bemerkungen: Im mikroskopischen Präparate konnte nur eine einzelne Bakterienart konstatiert werden, was sich dann später in den Kulturen bestätigte. Morphologisch und biologisch ist dieser Mikroorganismus identisch mit denjenigen in Büchse Nr. 25, resp. 32 schon gefundenen.

Tierversuche: Maus Nr. 71 = 0,7 ccm; Maus Nr. 72 = 0,7 ccm unfiltrierte Brühe, subkutan; keine Wirkung zu erkennen.

Büchse dicht.

Anschliefsend an die obigen Untersuchungen wurden nach den gleichen Methoden 16 Stück verschiedene unverdorbene Gemüsekonserven auf den Keimgehalt untersucht. Wenn auch im Präparate vereinzelt hin und wieder ein Stäbchen angetroffen wurde, so ergaben die Kulturen doch ein negatives Resultat; es scheinen also diese Konserven frei von entwicklungsfähigen Bakterien gewesen zu sein.

Fassen wir die Resultate der vorstehend 34 untersuchten verdorbenen Gemüsekonserven kurz zusammen, so ergeben sich aus deren Befunde folgende Schlüsse:

1. Die Bombagen wurden durch Mikroorganismen verursacht, was sich in 27 Fällen direkt durch die Kulturen, in 7 Fällen aber durch den mikroskopischen Nachweis einer grofsen Zahl von Bakterien in den betreffenden Büchsen beweisen liefs; in letzteren waren höchst wahrscheinlich die Organismen abgestorben.

2. Von den 34 verdorbenen Dosen waren 16 undicht, wovon 5 (Nr. 17, 20, 30, 32, 33) wahrscheinlich während der Aufbewahrung durch den kräftigen Gasdruck im Innern aufgerissen wurden,

was schon äufserlich leicht erkannt werden konnte, da der Falz zum Teil aufgesprengt war.

3. Die betreffende Undichtigkeit ist in den weitaus meisten Fällen an der Übergangsstelle von seitlicher Lötnat und Falz zu finden.

4. Aus den verschiedenen Büchsen gelang es, 20 verschiedene Bakterienarten zu züchten, wovon ich 12 identifizieren konnte.

5. In 9, resp. 12, der 18 dicht befundenen bombierten Büchsen, wenn der in 3 Fällen vorgefundene, nach Ansicht von Hueppe[1]) sporenbildende Bacillus acidi lactici Hueppe noch dazu genommen wird, gelang es mir, mehr oder weniger hitzebeständige Mikroben als Ursache der Bombage aufzufinden, die wohl die Sterilisation in irgend einer Weise überdauert hatten. In 4 Büchsen waren wohl mikroskopisch zahlreiche Bakterien nachzuweisen, während in den Kulturen keine solchen wuchsen. Die Frage der Sporogenität war somit nicht zu entscheiden.

5. Für Erbsen kommt von diesen Dauerformen bildenden Mikroben, namentlich Bacillus amylobacter (in 4 Büchsen gefunden) in Betracht. Daneben konnte ich noch je zweimal Bacillus acidi lactici Hueppe und Bacillus brassicae acidae neben einigen unbekannten, in ihrem Wachstum coliähnlichen Organismen finden.

6. Der unter Nr. 25 beschriebene und wiederholt vorgefundene Bazillus scheint namentlich für Bohnen gefährlich zu sein.

7. Auffallend ist die immer vorhandene, wenn auch zuweilen geringe Steigerung des Säuregehaltes in bombierten Gemüsekonserven.

Während ich in guten, keimfreien Bohnen- und Erbsenbüchsen für 10 ccm der betreffenden Büchse eine Acidität von 0,95—1,30 ccm $\frac{n}{10}$ Na OH finden konnte, variierte dieselbe in verdorbenen Büchsen der gleichen Gemüseart von 1,05—8,66 ccm $\frac{n}{10}$ Na OH. Bemerkenswert ist die stärkere Säuerung in den Büchsen Nr. 12 und 16.

1) Vgl. Migula, System d. Bakt., II, S. 327.

8. Die jeweils mit der Brühe der Büchsen ausgeführten Tierversuche an Mäusen verliefen alle resultatlos. Allerdings müssen wir zugeben, dafs diese Versuche für das Auffinden von Krankheitserregern insofern nicht erschöpfend waren, als bei denselben nur Mäuse angewendet wurden, weil andere Tiere in der nötigen Anzahl nicht zur Disposition standen. Aber das Eine geht aus denselben hervor, dafs in den Büchsen der erwähnte, für Mäuse stark toxische Bacillus botulinus nicht enthalten war, was auch mit den Kulturversuchen übereinstimmt. Das Gleiche gilt von dem ebenfalls mäusepathogenen Proteus, der, wie eingangs erwähnt, u. a. als Ursache von Konservenvergiftung angesehen wurde.

Folgende Versuche haben den Zweck, die Frage zu studieren, ob genannte Mikroben in den in Betracht fallenden Konserven überhaupt zu gedeihen vermögen.

### Bacillus botulinus und Proteus in Konservenbrühe.

Der als Erreger der Darmstädter Vergiftung angenommene Bacillus botulinus wurde, wie früher erwähnt, wieder angezweifelt[1]), indem Proteusarten als Ursache der Toxinbildung angesehen wurden.

Nach den bisherigen Beobachtungen ist der Bacillus botulinus gegen Säuren sehr empfindlich. Es mufste deshalb überraschen, dafs nach G. Landmann genannter Organismus auch auf Bohnenkonserven, also auf entschieden sauren Nährböden, Toxine bilde. Um diesen Widerspruch aufzuklären, führte ich folgende Versuche aus:

Der von Kràl bezogene Bacillus botulinus zeigte in seinem ganzen morphologischen wie auch biologischen Verhalten die gleichen Merkmale wie der von van Ermengen beschriebene[2]); nur hatte der Stamm, wie verschiedene Tierversuche gezeigt, die Eigenschaft verloren, auf glykosehaltigen Nährböden Toxine zu bilden. Da mir leider keine andere Kultur zur Verfügung stand, mufste ich mich auf die Frage beschränken, ob dieser

1) Konserven-Zeitung, Jahrg. 1904, Nr. 8.

2) Kolle-Wassermann, Handbuch d. pathogenen Mikroorganismen. 9. u. 10. Liefg., 1903, S. 637.

Bazillus in den genannten Substraten, die aus keimfreien Büchsen des Handels entnommen wurden, zu gedeihen vermag. Bei wiederholten, auch bei verschiedenen Temperaturen ausgeführten Versuchen konnte immer in Bouillon mit Traubenzucker, ebenso in Erbsenbrühe bei Einimpfung von Bacillus botulinus starke Trübung uud Gasentwicklung mit Buttersäuregeruch konstatiert werden; in gleichzeitig beimpfter Bohnenbrühe war niemals Wachstum zu bemerken, obschon diese unter gleichen Bedingungen gehalten wurde. Auch im mikroskopischen Präparat war keine Vermehrung zu bemerken. Der allerdings nicht toxisch wirkende Stamm von Bacillus botulinus, mit dem diese Versuche gemacht, wuchs also in Bohnenbrühe nicht, wohl aber in Erbsenbrühe.

Wie erwähnt, prüfte ich auch das Verhalten von Bacillus proteus vulgaris auf diesen Nährböden. Die Kulturen wurden 6 Tage anaerob bei 22° gehalten.

In Traubenzuckerbouillon, in Erbsen- und Bohnenbrühe war ein üppiges Wachstum und Gasentwicklung zu verzeichnen. Auf all diesen Substraten bildeten sich kräftig wirkende Toxine, so dafs weifse Mäuse nach 1—3 Tagen daran zugrunde giugen bei subkutaner Injektion von 0,6—0,7 ccm der keimfrei filtrierten Flüssigkeit.

### Lebensdauer der Bakterien, welche die Bombage verursachen.

Aus den bakteriologischen Untersuchungen ist ersichtlich, dafs es nur bei einzelnen bombierten Konservenbüchsen, trotz vielseitiger Versuche, nicht gelang, die Verderber zu züchten, obschon in den diesbezüglichen mikroskopischen Präparateu eine Menge solcher nachweisbar waren.

Dies konute ich mir kaum auders erklären, als dafs die Organismeu abgestorben waren. Sie haben sich wohl anfänglich in den schwach sauren Gemüsekonserven gut entwickelt, sind aber später mit zunehmendem Säuregrad in ihren eigenen Stoffwechselprodukten zugrunde gegangen.

Um dieser Frage näher zu treten, stellte ich folgende Versuche an: Bohnen oder Erbsen mit Kochsalz und Wasser in dem

in den Konserven vorkommenden Verhältnis versetzt, in Glasröhren in drei aufeinanderfolgenden Tagen je eine Stunde im Dampftopf sterilisiert und nachher nach den bekannten Methoden auf Keimfreiheit geprüft, wurden mit einigen aus Konserven isolierten Bakterien beimpft, die Röhren zugeschmolzen und längere Zeit bei Zimmertemperatur im Dunkeln sich selbst überlassen. Schon nach kurzer Zeit war in den erwähnten Glasröhren Wachstum und lebhafte Gasentwicklung im Innern zu bemerken.

Organismen aus den Büchsen Nr. 13, 18, 23 in der erwähnten Weise in Bohnen eingeimpft waren trotz kräftiger Gas- und Säurebildung nach fünf Monaten noch lebensfähig; zur Neutralisation der gebildeten Säure wurden pro 10 ccm Brühe: 3,57; 0,79; 3,49 ccm $\frac{n}{10}$ Na OH verbraucht. Die ursprüngliche Säuerung einer gleich lang, ebenfalls eingeschmolzenen sterilen Probe betrug für 10 ccm 0,79 ccm $\frac{n'}{10}$ Na OH.

Eine in gleicher Weise, mit dem aus Büchse 10 isolierten Organismen eingeimpfte, mit Erbsen beschickte Probe zeigte nach neun Monaten bei einer Säuerung von 9,82 ccm $\frac{n}{10}$ Na OH pro 10 ccm Erbsenbrühe keine entwicklungsfähigen Bakterien mehr Doch liefsen sich solche in grofser Zahl durch das mikroskopische Präparat nachweisen. Versuche mit den aus Büchse Nr. 1 und 14 gefundenen Bazillen gaben nach acht resp. fünf Monaten noch Lebensfähigkeit.

Wohl möglich, dafs ich zu einem anderen Resultate gelangt wäre, wenn ich die Röhren noch länger sich selbst überlassen hätte, was mir aus äufseren Gründen nicht möglich war.

Immerhin ist durch den einen Versuch erwiesen, dafs Bakterien auch in Konserven in ihren eigenen Stoffwechselprodukten zugrunde gehen können Möglich wäre auch, dafs diejenige Bakterien, welche die Sterilisation in irgend welcher Art überstanden haben, oder solche, welche nachträglich von aufsen hineingelangt sind, sich erst dann in den Büchsen nicht

mehr entwickeln, wenn die zu ihrem Lebensunterhalte nötige Menge Sauerstoff aus der Luft, die doch immer in kleinen Mengen in den Dosen vorkommt, aufgezehrt ist.

## Gasdruck bombierter Gemüsekonserven.

Bei meinen Untersuchungen fiel mir öfters der enorme Druck im Innern der Dosen auf, und ich entschloss mich, denselben durch einige Messungen festzustellen.

Um den Gasdruck in bombierten Büchsen zu bestimmen, wurde an der betreffenden Dose in der Mitte des Deckels ein kurzes Messingröhrchen aufgelötet und darüber ein dickwandiges, möglichst kurzes, enges Gummischlauchstück (Vakuumschlauch) mittels Drahtligaturen gut befestigt. In das Rohr, resp. in den Schlauch wurde nun ein scharf zugespitzter, kurzer, oben mit einem Knopf versehener Stahlnagel hineingelegt und der ganze Schlauch mit Wasser gefüllt. Bei den ersten Versuchen wurde das Schlauchende mit einem Quetschhahn verschlossen und hierauf der Schlauch wenig umgebogen und mit der Hand fest auf den Nagelknopf gedrückt, so dass die Spitze in die Blechdose eindrang und derart eine Verbindung mit dem Innern der Büchse und dem Schlauche herstellte. Zuerst wurde zur Druckmessung ein U-förmig gebogenes, langes, mit Quecksilber gefülltes Glasrohr angesetzt und der Quetschhahn geöffnet; sodann konnte durch Bestimmung der Niveaudifferenz der beiden Quecksilberkuppen der Gasdruck in mm Hg abgelesen werden. Wie aus untenstehender Tabelle ersichtlich, war der Druck manchmal so gross, dass diese Vorrichtung nicht zu gebrauchen war, daher verwendete ich in der Folge anstatt des U-Rohres ein Metallmanometer und stellte die Verbindung des Doseninnern mit dem Manometer in gleicher Weise her.

In untenstehender Zusammenstellung sind die erhaltenen Resultate in Atmosphären-Überdruck angegeben.

(Siehe die Tabelle auf S. 137.)

Wie aus dieser Tabelle ersichtlich, ist der Druck in den verdorbenen Konserven manchmal ein enormer, und es braucht uns

nicht zu verwundern, wenn ein spontanes Platzen der Dosen vorkommt, wobei der Falz gewöhnlich aufgesprengt werden soll.

| Gröfse der Büchse | Inhalt der Büchse | Druck in Atmosphären |
|---|---|---|
| 1 Liter | Schwarzwurzeln | 0,4 Atmosphären |
| 1 » | Erbsen | 0,2 » |
| 1 » | Erbsen | 0,3 » |
| 1/2 » | Karotten | 0,7 » |
| 1 » | Bohnen | 2,0 » |
| 1/2 » | Erbsen | 3,5 » |
| 1 » | Erbsen | 1,9 » |
| 1/2 » | Bohnen | 2,0 » |
| 1 » | Erbsen | 2,2 » |
| 1 » | Erbsen | 2,1 » |

### Prüfung des Büchsenmateriales auf Dichtigkeit.

Aus meinen früher erwähnten Untersuchungen ist zu entnehmen, dafs ein grofser Teil der Bombagen auf Undichtigkeit der betreffenden Dosen, die entweder schlecht gefalzt oder nachträglich gelitten, zurückzuführen ist. Um den Grund näher kennen zu lernen, untersuchte ich 30 Stück leere, beiderseitig verschlossene, neue Dosen verschiedener Gröfse ohne Inhalt, die mir in zuvorkommender Weise von mehreren Fabriken übermittelt worden waren, nach der früher erwähnten Evakuierung mit einer Wasserstrahlpumpe. Von diesen 30 derartig geprüften Büchsen waren vier Stück an der Übergangsstelle von Lötnat und Falz undicht.

Woher es kommt, dafs ein so hoher Prozentsatz (13 1/3 %) von Dosen undicht war, kann ich mir nicht genau erklären. Vielleicht ist es einem Zufall zu verdanken, oder, was wahrscheinlicher ist und man mir auch seitens einer Fabrik nachträglich mitgeteilt hat, dafs man namentlich solche Büchsen vom Lager genommen hatte, bei denen am ehesten eine Möglichkeit einer späteren Undichtigkeit vermutet wurde.

Gestützt auf diesen Befund und namentlich auch darauf, dafs bei den bombierten Büchsen in sehr vielen Fällen die Ursache des Zerstörens auf Undichtigkeit zurückzuführen ist,

möchte ich die Frage aufwerfen, ob es vom ökonomischen Standpunkte aus nicht empfehlenswert wäre, die maschinellen Einrichtungen für das Falzen zu verbessern oder, wenn dies nicht möglich, diese verdächtige Stelle noch nach dem Falzen zu verlöten?

## Chemische Zusammensetzung der Gase.

Diese Frage besitzt zwar kein praktisches, wohl aber wissenschaftliches Interesse. Daher entschlofs ich mich, eine Reihe diesbezüglicher Untersuchungen zu machen.

Dazu wurden mehr oder weniger stark bombierte Büchsen verwendet und die Gase nach der Methode von Hempel[1]) untersucht. Schwere Kohlenwasserstoffe und Methan konnten niemals gefunden werden. Der durch die Absorption erhaltene Gasrest wurde in der Explosionspipette verbrannt und die Kontraktion bestimmt.

**Zusammensetzung der Gase in Prozenten.**

| Inhalt der Büchse | $CO_2$ in % | O in % | H in % | N in % |
|---|---|---|---|---|
| Bohnen . . . . stark bombiert | 38,1 | 0,4 | 21,5 | 40,0 |
| Erbsen . . . . wenig » | 69,8 | — | — | 30,2 |
| Erbsen . . . . stark » | 81,8 | 0,1 | — | 18,1 |
| Bohnen . . . . wenig » | 36,0 | 0,5 | 11,4 | 52,1 |
| Erbsen u. Karotten, stark » | 72,6 | 0,7 | — | 26,7 |
| Erbsen . . . schwach » | 70,8 | 0,8 | — | 28,4 |
| Erbsen . . . sehr stark » | 21,3 | 0,3 | 60,3 | 18,1 |
| Erbsen . . . . kräftig » | 68,6 | — | 21,2 | 10,2 |
| Erbsen . . . . mäfsig » | 87,4 | — | — | 12,6 |
| Erbsen . . . sehr stark » | 77,8 | 0,2 | — | 22,0 |
| Bohnen . . . . mäfsig » | 32,5 | 0,7 | 20,0 | 46,8 |
| Karotten . . . wenig » | 17,2 | 6,7 | 56,0 | 20,1 |
| Bohnen . . sehr gering » | 34,4 | 0,5 | 5,0 | 60,1 |
| Bohnen . . . schwach » | 21,7 | 0,5 | 5,3 | 72,5 |
| Gemischte Gemüse, wenig » | 15,2 | — | 60,4 | 24,4 |
| Spinat . . . schwach » | 12,8 | 0,8 | 45,1 | 41,3 |

1) Treadwell, F. P., Quantitative chemische Analyse, I. Aufl., S. 465.

Der Sauerstoff dürfte der bei dem Verschlufs der Büchsen zurückgebliebenen Luft entstammen, ebenso ein Teil des Stickstoffs. Der andere Teil des letztereu aber, sowie die Kohlensäure und der Wasserstoff, sind als Produkte der Bakterientätigkeit aufzufassen, durch welche auch ein Teil des ursprünglichen Luftsauerstoffs verbraucht wurde.

## Maximaltemperatur in den Gemüsekonserven während der Sterilisation in den Autoklaven.

Zu wiederholten Malen war mir die zum Teil geringe Hitzebeständigkeit einzelner Mikroorganismen, die ich in bombierten, als dicht befundenen Gemüsekonservenbüchsen vorgefunden hatte, aufgefallen, und es stieg in mir die Vermutung auf, dafs unter Umständen die Temperatur in den Büchsen während der Sterilisation im Autoklaven nicht so hoch sei, wie man vermuten konnte. Um darüber klar zu werden, führte ich einige diesbezügliche Temperaturmessungen aus. (Bei diesen Versuchen möchte ich noch besonders darauf aufmerksam macheu, dafs ich allerdings nur die Temperatur der die Gemüse umgebenden Flüssigkeit ermitteln konnte. Wie sich die Verhältnisse im Innern einer Bohnenhülse oder Erbse, wo doch auch Bakterien hineingelangen können, gestalten, konnte ich aus naheliegenden Gründen leider uicht ermitteln.)

Zu diesem Zwecke wurden eine Reihe kleiner, von 90—110°, bzw. 105—125° eingeteilter Maximalthermometer benutzt. Dieselben wurden so klein wie möglich angefertigt und hatten eine Länge von 5,5 cm und eiuen Durchmesser von 4—5 mm. Alle Thermometer waren vor dem Gebrauche auf ihre Richtigkeit genau geprüft worden.

Bei den Versuchen im Laboratorium wurde in dem Deckel der Büchse eine kleine Öffnung gemacht, das an einem Drahte befestigte Thermometer möglichst in die Mitte des Gemüses gesteckt und das Ganze wieder zugelötet.

Während der Versuche bestimmte ich jedesmal auch die die Büchsen umgebende Maximaltemperatur in dem Autoklaven während der Konservierung; zum Vergleiche wurde auch der

Druck, resp. die Temperatur am Manometer abgelesen und die Zeit genau eingehalten. In einem kleinen Autoklaven des Laboratoriums wurden folgene Zahlen erhalten, wenn die Luft vollständig durch ausströmenden Dampf verdrängt wurde:

Dauer 20 Minuten; Temperatur an der Temperaturskala des Manometers 117°, Temperatur am Maximalthermometer im Autoklaven 121,5°.

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| I. | ½ l | Büchse | Bohnen | 119,6° | Maximaltemperatur, |
| | ½ l | » | Erbsen | 120,2° | » |
| | 1 l | » | Erbsen | 119,2° | » |
| | ½ l | » | Erbsen | 119,6° | » |

Diese überraschenden Zahlen waren durch die Kleinheit des Apparates bedingt, da, wie aus Versuchen hervorging, die Ausstrahlung der grofsen Metallmasse zu sehr in Betracht kam.

Bei den folgenden Messungen wurde ein gröfserer Autoklav, System Lautenschläger (innere Tiefe bis zur Wasseroberfläche 300 mm; innerer Diameter 250 mm), mit Manometerregulator versehen, benutzt. Auch hier wurde die Luft möglichst vollständig entfernt.

II. 20 Minuten 113° (Temperaturskala des Manometers).

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 1 l | Büchse | Erbsen | 108,5° | Maximaltemperatur, |
| 1 l | » | » | 109,0° | » |
| 1 l | » | » | 109,1° | » |
| ½ l | » | » | 111,0° | » |
| ½ l | » | » | 110,5° | » |
| 2 l | » | » | 106,0° | » |

Maximaltemperatur im Autoklaven 112,5°.

III. 20 Minuten 118° (Manometerablesung).

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 1 l | Büchse | Erbsen | 113,7° | Maximaltemperatur. |
| 1 l | » | gemischte Gemüse | 113,2° | » |
| 1 l | » | Erbsen | 113,4° | » |
| 2 l | » | » | 110,8° | » |
| ½ l | » | » | 116,0° | » |
| ½ | » | » | 115,8° | » |

Die maximale Temperatur im Autoklaven betrug während des Prozesses, an zwei verschiedenen Stellen gemessen, übereinstimmend 117,5°.

IV. 15 Minuten 112° (Manometerablesung).

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 1 l | Büchse | Bohnen | 108,0° | Maximaltemperatur, |
| 1 l | » | Wachsbohnen | 109,0° | » |
| 1 l | » | feine Bohnen | 107,5° | » |
| 1 l | » | ganz feine Bohnen | 106,8° | » |
| ½ l | » | grobe Bohnen | 111,0° | » |
| 1 l | » | Erbsen | 109,6° | » |

Maximaltemperatur im Autoklaven 112,5°.

Diese auffallenden Verschiedenheiten lassen sich vielleicht dadurch erklären, dafs die Flüssigkeit bei den gröfseren, den groben Bohnen, wie z. B. den Wachsbohnen, besser zirkulieren kann wie bei den kleineren, wo die Zwischenräume viel enger sind.

V. 15 Minuten 109° (Manometerablesung).

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 1 l | Büchse | Bohnen | 105,0° | Maximaltemperatur, |
| 1 l | » | » | 104,0° | » |
| 1 l | » | Karotten | 106,0° | » |
| ½ l | » | Bohnen | 107,0° | » |

Maximaltemperatur im Autoklaven 109,5°.

VI. 15 Minuten 115° (Manometerablesung).

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 1 l | Büchse | Bohnen | 111,0° | Maximaltemperatur. |
| 1 l | » | » | 109,9° | » |
| 1 l | » | gelbe Rüben | 112,2° | » |
| ½ l | » | Bohnen | 113,0° | » |

Maximaltemperatur im Innern des Apparates 115,4°.

Durch das freundliche Entgegenkommen seitens der Direktion einer Konservenfabrik wurde es mir auch ermöglicht, einige Messungen in den von der Fabrik selbst benutzten Autoklaven auszuführen.

An den Thermometern wurde oben wieder ein Draht befestigt und dieser in der Mitte des Dosendeckels derart angelötet,

dafs der Draht und damit das Thermometer beim nachherigen Falzen durch die Maschine in die Mitte der Büchse zu liegen kam.

Es wurden hier folgende Versuche und Ablesungen an den Maximalthermometern gemacht:

VII. 20 Minuten 105° (Manometerablesung).
1 l Büchse Tomatenpüree 102,8° Maximaltemperatur in der Büchse,
1 l » Konfitüre 102,2° »
Maximaltemperatur im Autoklaven 110°.

VIII. 25 Minuten 112° (Manometerablesung).
1 l Büchse rote Kirschen 108°.
Maximaltemperatur im Autoklaven 113°.

IX. 20 Minuten 115° (Manometerablesung).
1 l Büchse Schwarzwurzeln 113,9°.
Maximaltemperatur im Apparat 120,0°.

X. 20 Minuten 117° (Manometerablesung).
1 l Büchse Bohnen 110,0° Maximaltemperatur,
1 l » Spinat 104,0° »
1 l » Erbsen 112,0° »
Maximaltemperatur im Autoklaven 119,0°.

Die Temperaturen im Innern des Autoklaven sind hier bei obigen Versuchen deshalb höher, wie diejenigen, welche denselben laut Manometerablesung entsprechen sollten, weil bei den Versuchen der betreffende Arbeiter in der Fabrik meinem Wunsche gemäfs den auf etwa 7—8 Atmosphären gespannten Dampf derart einströmen liefs, wie es gewöhnlich geschieht. Durch das zu rasche Einströmenlassen des Dampfes wurde das Thermometer im Autoklaven für ganz kurze Zeit einer höheren Temperatur ausgesetzt als diejenige, bei der in Wirklichkeit die Sterilisation erfolgte.

Bei den folgenden Versuchen liefs ich den Dampf vorsichtig einströmen.

XI. 20 Minuten 125° (Manometerablesung).
2 l Büchse Sauerkraut 106,5°.
Maximaltemperatur im Autoklaven 124,5°.

XII. 30 Minuten 105° (Manometerablesung).
5 l Büchse Tomatenpüree 105,0° Maximaltemperatur,
½ l » » 105,5° »

XIII. 60 Minuten 105° (Manometer).
5 l Büchse Äpfelmark 105,0°,
2 l » Erbsen 106,0°,
½ l » Äpfelmark 105,9°.
Maximaltemperatur im Apparate 106,5°.

XIV. 20 Minuten 117° (Manometerablesung).
1 l Büchse Kirschen 111,0° Maximaltemperatur,
1 l » Spinat 104,0° »
1 l » Erbsen 112,0° »
1 l » Bohnen 109,5° »
Maximaltemperatur im Autoklaven 117,9°.

Bemerkenswert sind die Zahlen in X, XI, XIV, welche uns zeigen, dafs Spinat und Sauerkraut schwer zu sterilisieren sind. Das dichte, kompakte Material verhindert offenbar einen raschen Ausgleich der Temperatur. Ich will noch besonders bemerken, dafs diese Temperaturen nur teilweise im Einklang mit den sonst von der Fabrik verwendeten stehen.

Von gröfster Wichtigkeit ist die Kenntnis der Geschwindigkeit, mit welcher die verschiedenen Konserven die umgebende Dampftemperatur im Autoklaven bis zu einem gewissen Grade annehmen.

Folgende Bestimmungen geben uns hierüber Aufschlufs:

1 l Büchse Erbsen gleicher Qualität erreichten 105,8° nach 5 Min.
1 l » » » » » 108,2° » 10 »
1 l » » » » » 111,9° » 15 »
1 l » » » » » 113,0° » 20 »

Die Temperatur, am Manometer entnommen, betrug bei diesen Versuchen 115°; diejenige im Innern des Autoklaven 115,5°.

1 l Büchse Bohnen erreichten 104,5° nach 5 Min.,
1 l » » » 107,5° » 10 »
1 l » » » 109,0° » 15 »

Die Maximaltemperatur am Manometer betrug 112°; diejenige im Innern des Autoklaven bei allen drei Versuchen 112,0°.

Heydenreich[1]) untersuchte diese Frage beim Wasser, indem er, in mit demselben gefüllte Glaskolben verschiedener Gröfse Maximalthermometer legte und das Ganze in den Dampftopf brachte. Nachher verglich er die Temperatur des in dem Deckel des Dampftopfes steckenden Thermometers mit demjenigen im Wasserkolben. Er fand:

für 120°

(Thermometer des Deckels des Dampfkessels)

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 3¾ l | Wasser | erreichten | 120° | in wenig mehr als 15 Min., |
| 2 l | » | » | 120° | in ca. 15 » |
| 1 l | » | » | 120° | zwischen 5—10 » |
| ½ l | » | » | 120° | in wenig mehr als 2 » |

für 110°

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 1 l | Wasser | erreichte | 110° | zwischen 5 und 10 Min., |
| ½ l | » | » | 110° | » 2 » 5 » |
| 200 ccm | » | » | 110° | » 2 » 5 » |
| 100 ccm | » | » | 110° | in ca. 2 » |

Auch andere[2]) haben ähnliche Versuche angestellt.

Wie aus diesen Zahlen ersichtlich, nimmt Wasser in einem offenen Gefässe die Temperatur des umgebenden Dampfes verhältnismäfsig sehr rasch an, während es bei den in Büchsen liegenden Konserven viel länger geht. Es kommt offenbar das schlechte Wärmeleitungsvermögen des Gemüses und der behinderte Ausgleich durch Strömung der Flüssigkeit in der Büchse in Betracht.

---

1) Heydenreich, Sterilisation mittels des Dampfkochtopfes für bakteriologische Zwecke. Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikroskopie und f. mikroskopische Technik. Bd. I, Heft 1, 1884; zit. nach Th. Christen, Dissert., Bern, 1895: Untersuchungen über die Dauer des Sterilisationsprozesses im gespannten Dampfe bei gegebenen fixen Temperaturen.

2) Koch, Rob., Gaffky, Löffler, Versuche über die Verwertbarkeit heifser Wasserdämpfe zu Desinfektionszwecken. Mitteilungen aus dem Kais. Gesundheitsamte, 1881, Bd. I, S. 322.

Sehr ungünstig gestalten sich die Verhältnisse, wenn man absichtlich Luft in dem Autoklaven läfst. Da auch dieser Faktor bei der Konservierung eine grofse Rolle spielt, so führte ich einige diesbezügliche Messungen aus. Die Luft wurde nicht aus den Apparaten entfernt.

20 Minuten 114° (Manometerablesung).

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 l | Büchse | Erbsen | 103,5° | Maximaltemperatur | in | der | Büchse, |
| ½ l | » | » | 105,5° | » | » | » | » |
| 1 l | » | Bohnen | 103,0° | » | » | » | » |
| ½ l | » | » | 104,5° | » | » | » | » |
| 1 l | » | Spinat | 101,0° | » | » | » | » |

Die Maximaltemperatur im Autoklaven betrug in der Nähe des Deckels gemessen nur 100,0°, wohl wegen der Anwesenheit von Luft.

Der Einfluſs der zurückgebliebenen Luft geht auch aus folgendem Versuche hervor, bei welchem im Innern des Apparates in verschiedene Höhenlagen Maximalthermometer angebracht wurden.

15 Minuten 118° (Manometerablesung).

| | | |
|---|---|---|
| Thermometer | in der Nähe des Deckels | 101,0°, |
| » | » » Mitte des Autoklaven | 105,5°, |
| » | über der Wasseroberfläche | 117,0°. |

Die Einbuſse, welche die Fabrikanten alljährlich durch das Verderben der Konserven erleiden, sind bei einem geordneten Betriebe gegenwärtig bedeutend zurückgedrängt, während man früher, wo die Arbeitsmethoden nicht so genau ausprobiert waren, mit viel gröſseren Verlusten rechnen muſste. Es konnte mitunter vorkommen, daſs ein ganzer Satz verdarb.

Als die hauptsächlichsten Gründe, die Bombagen von Konserven bewirken können, möchte ich, gestützt auf vorhergehende Versuche, resümierend folgende anführen[1]):

1. Die Temperaturen im Innern der Büchsen erreichen gelegentlich nicht die notwendige Höhe.

1) Vgl. auch v. Wahl, Konserven-Zeitung, Jahrg. 1903, Nr. 11.

Dies kann vorkommen:

a) Wenn zu wenig lang sterilisiert wird,

b) durch das Zurückbleiben von Luft, sowohl in dem Autoklaven als auch in den Büchsen.

Es ist daher dringend notwendig, die Luft aus den Autoklaven bei der Sterilisation vollständig ausströmen zu lassen und die Dosen möglichst mit Wasser zu füllen; denn die Luft erwärmt sich viel langsamer als Wasserdampf. Wenn sich nur an einer einzelnen Stelle der Büchse im Innern eine kühlere Luftinsel bildet, in der sich zufällig vereinzelte, auch nicht sehr hitzebeständige Sporen finden, so können sie den Sterilisationsprozefs überdauern, um sich dann nachher auf dem günstigen Nährboden zu vermehren und eine Zersetzung herbeizuführen.

2. Die Verderber können durch Undichtigkeit der Dosen von aufsen hereindringen, indem die Büchse schlecht gefalzt wurde oder nachträglich aus irgend einem Grunde gelitten hat.[1]) Solche Büchsen können dann trotz einer ursprünglich bestehenden Verbindung nach aufsen bombieren. Eine Ausgleichung des Druckes braucht nicht stattzufinden, indem eine winzig kleine Öffnung, welche den Verderbern als Eingangspforte gedient hat, nachträglich durch den Gummiring im Falz oder durch ein kleines Partikelchen des Gemüses ventilartig wieder verschlossen werden kann. Dafür spricht auch, dafs sehr häufig aus bombierten Büchsen kleine Mengen des Gemüseinhaltes aussickern. Auch ist ein nachträglicher Verschlufs durch Zurostung der Büchse denkbar.

Eine solche nachträgliche Infektion wird bei undichten Büchsen u. a. dadurch begünstigt, dafs die den Autoklaven verlassenden Konserven zur Abkühlung in Wasser untergetaucht werden, welches wiederholt zu diesem Zwecke

1) Vgl. auch Pfuhl, E., Über die Entstehung, Erkennung und Behandlung undichter Fleischkonservenbüchsen. Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankheiten, Bd. 50, Heft 2, 19. Mai 1905, S. 317.

gebraucht wird und deshalb eine gröfsere Zahl von Bakterien beherbergt. Undichte Dosen können solches verunreinigtes Wasser aspirieren, wodurch dann ebenfalls eine Bombage zustande kommen kann. Hier wird es sich wohl meist um Saprophyten handeln, doch ist die Infektion mit pathogenen Keimen nicht ausgeschlossen, namentlich aber können Toxinbildner auch auf diesem Wege in die Konserven gelangen.

Es ist hier zu empfehlen, möglichst gutes, einwandfreies Brunnenwasser zur Abkühlung anzuwenden und dasselbe tunlichst häufig zu wechseln, wodurch die Gefahr einer nachträglichen Einwanderung von Mikroorganismen irgend welcher Art herabgemindert wird.

3. In vielen Fällen spielt sicherlich auch die grofse Widerstandsfähigkeit der Mikroben gegen hohe Temperaturen eine Rolle. Allerdings konnten von anderen und auch von mir aus verdorbenen Gemüsekonserven keine Mikroben isoliert werden, die die oben angeführten Temperaturen aushalten.

Es ist bekannt, dafs Erbsen schwieriger zu konservieren sind als Bohnen. Obschon man erstere viel höher und länger sterilisiert, bombiert ein gröfserer Prozentsatz. Diese Verschiedenheit ist vielleicht in der chemischen Zusammensetzung der betreffenden Gemüse zu suchen. So ist es beispielsweise nicht unmöglich, dafs der stärkere Säuregehalt bei Bohnen auch das Sterilisieren erleichtert oder nachträglich wachstumshemmend wirkt. Aufser der Säure kommen in den Gemüsen noch andere Bestandteile in Betracht, die einen Einflufs auf Organismen haben können, so scheinen z. B. Karotten eine solche entwicklungshemmende Substanz zu enthalten, da sie leicht steril zu erhalten sind.

Zum Schlusse möchte ich noch darauf aufmerksam machen, dafs es, um Vorgängen wie in Darmstadt tunlichst entgegenzutreten, ratsam ist, Konservennahrung nur nach nochmaligem

Aufkochen zu genieſsen und alle solche Büchsen, welche beim Öffnen die geringste Spur einer Zersetzung zeigen, unschädlich zu machen mit Rücksicht darauf, daſs die Möglichkeit der Anwesenheit von Toxinen oder pathogenen Keimen nicht ausgeschlossen ist.

Bombierte Büchsen sind auch noch aus dem Grunde vom Handel auszuschlieſsen, weil bei ihnen gewöhnlich eine starke Säuerung auftritt und nach Lehmann[1]) die durch die Gärung gebildeten Säuren die Lösung des Zinns erleichtern und so unter Umständen zu Zinnvergiftungen führen können.

1) Lehmann, K. B., Untersuchungen über die hygien. Bedeutung des Zinns, insbesondere in Konserven. Archiv f. Hygiene, Bd. 45, Jahrg. 1902 S. 88—116. — Praktische Hygiene, S. 445.

(Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag.
Vorstand: Prof. Hueppe.)

# Die schützenden Eigenschaften des Blutes von aggressinimmunen Hühnercholeratieren.

Von

Dr. **Edmund Weil,**
Assistenten des Institutes.

Ausgeführt mit Unterstützung der Gesellschaft zur Förderung deutscher Wissenschaft, Kunst und Literatur in Böhmen.

Schon die Erzeugung der aktiven Immunität bei den Erregern der von Hueppe so benannten hämorrhagischen Septikämie stiefs auf grofse Schwierigkeiten. Die Pasteursche Methode mit abgeschwächten Kulturen (Vaccins) war sehr mangelhaft. Voges, der in der bakteriziden Aera mit toten Bakterien Immunität zu erzielen suchte, hatte nur Mifserfolge. Bessere Resultate hatte Kitt, worauf schon in einer früheren Arbeit hingewiesen wurde. Daselbst konnte auch gezeigt werden, auf welch einfache und sichere Weise es gelingt, hohe und dauernde aktive Immunität beim gefährlichsten Erreger der hämorrhagischen Septikämie, beim Hühnercholerabazillus, zu erzeugen, wenn man die Immunisierung nach einer Methode vornimmt, die auf der Grundlage der Bailschen Aggressintheorie basiert, nämlich durch Behandlung mit aggressinhaltigem Exsudat. Es sei hier nachgetragen, dafs der Schutz, den die aktive Immunität verleiht, soweit bisher festgestellt werden konnte, auf mindestens 3 Monate anhält, indem ein Kaninchen, das vor dieser Zeit die letzte

Exsudatinjektion erhalten hatte, die enorme Menge von 1 ccm virulenter Bouillonkultur reaktionslos vertrug[1]).

Was die passive Immunität anlangt, mit der sich die nachfolgenden Untersuchungen hauptsächlich beschäftigen, so können wir sagen, dafs ein sicher schützendes Immunserum bei Hühnercholera bisher überhaupt nicht existiert. Voges konnte bei seinen Tieren nie eine spezifische Eigenschaft im Blute auffinden; die Schutzwirkung, die er mit dem Blute seiner behandelten Tiere erzielte, verlieh auch das Serum von normalen Tieren; aufserdem bezog sich der Schutz auf Meerschweinchen, die gegen die Erreger der hämmorrhagischen Septikämie natürliche Resistenz besitzen. Seine Untersuchungsergebnisse fafst er folgendermafsen zusammen: »Mithin ist das einzige positive Resultat dieser unendlichen Bemühungen die Erkenntnis von der Unmöglichkeit spezifischer Wirkung der Sera von Tieren, die wir mit den Bakterien der hämmorrhagischen Septikämie zu immunisieren versucht haben.«

Die in neuerer Zeit hergestellten Immunsera von Jefs und Piorkowski, von Niebel und Hoffmann, ferner von Schreiber verliehen, wie die Nachprüfungen ergeben haben, keinen genügenden Schutz. Die nach der Kittschen Methode immunisierten Tiere liefern, wie der Autor berichtet, ein Serum, welches in allerdings hohen Dosen Schutz verleiht. Lignières konnte ein Serum von sicherer Wirksamkeit nicht erzeugen. Leclainche und Nocard konnten bei Mäusen und Kaninchen durch Serumbehandlung lediglich eine Lebensverlängerung erzielen, wirklicher Schutz trat nicht auf. Wir sehen, dafs die grofsen Schwierigkeiten, ein wirksames Serum gegen die Erreger der Hühnercholera zu erzielen, bisher nicht überwunden sind.

Die sicheren Resultate, welche die aktive Immunisierung gegen Hühnercholera ergeben hatte, liefsen erwarten, dafs das Blut der mit aggressivem Exsudat behandelten Tiere Schutz verleihende Stoffe enthalten würde. Konnte schon Bail bei Milzbrand durch Behandlung mit aggressinhaltigem Ödem ein Serum erlangen,

1) Siehe Wiener klin. Wochenschr., 1905, Nr. 16.

das die bisher bekannten an Wirksamkeit weit übertrifft, so mufste gewissermafsen die Hühnercholera, bei der wir über ein sicher wirkendes Immunserum überhaupt nicht verfügen, einen Prüfstein abgeben für den Wert dieser neuen Methode.

Es wurden, da sich behufs Serumgewinnung an gröfseren Tieren vorläufig äufsere Schwierigkeiten in den Weg stellten, ausschliefslich Kaninchen verwendet. Sterilisiertes Exsudat vertrugen dieselben selbst in gröfsten Mengen reaktionslos. Infiltrate, welche auftreten, beruhen stets darauf, dafs das Exsudat noch gröfsere Mengen toter Bakterien enthält und lassen sich mit Sicherheit vermeiden, wenn dieselben durch Zentrifugieren entfernt sind. Die Behandlung mit Exsudat ist sehr einfach, und die Immunität wird, wie aus beifolgendem Beispiele zu ersehen ist, auf folgende Weise hochgetrieben.

**Kaninchen IV.**

| | | |
|---|---|---|
| 20. XI. | 04. $^1/_2$ ccm sterilisiertes Kaninchenexsudat subkutan . . | 1975 g |
| 27. XI. | 04. $1^1/_2$ ccm » » » . . . . . | 2050 » |
| 3. XII. | 04. 3 ccm » » » . . . . . | 2115 » |
| 14. XII | 04. $^1/_{10}$ Öse Hühnercholerabazillen subkutan (zur Prüfung der Immunität) . . . . . | 2140 » |
| 6. I. | 05. 5 ccm sterilisiertes Exsudat subkutan . . . . . | 2150 » |
| 19. I. | 05. Blutentnahme aus der Jugularis externa. (Schützt in Dosen von 1 ccm Kaninchen.) | |
| 4. II. | 05. 8 ccm sterilisiertes Exsudat subkutan . . . . . | 2150 » |
| 10. II. | 05. 10 ccm » » » . . . . . | 2270 » |
| 7. III. | 05. 15 ccm » » » . . . . . | 2350 » |
| 30. III. | 05. 20 ccm » » » . . . . . | 2550 » |
| 17. IV. | 05. Blutentnahme von 25 ccm aus der Jugularis externa (Schützt Mäuse in der Dosis von $^1/_{10}$ ccm, Kaninchen $^1/_2$ ccm) . . . . . | 2450 » |
| 22. IV. | 05. 30 ccm sterilisiertes Exsudat subkutan . . . . . | 2500 » |
| 10. V. | 05. 40 ccm » » » . . . . . | 2400 » |
| 8. VI. | 05. Entblutet (mit diesem Serum wurden die letzten Versuche angestellt.) | |

Alle hier zur Verwendung gelangten Immunsera stammten von Kaninchen, zu deren Immunisierung Exsudate verwendet wurden, welche mit dem Stamm »Prag« erzeugt waren. Wir verfügen über drei Stämme von Hühnercholerabakterien: den Stamm »Prag«, der durch mehr als 100 Kaninchenpassagen eine

ungeheuere Pathogenität für Kaninchen erlangt hatte, dieselbe aber in hohem Mafse für Mäuse und Vögel beibehalten hatte; den Stamm »Teplitz«, welcher frisch aus einem Huhn gezüchtet war, ebenfalls von hoher Pathogenität, welcher aber, wie aus verschiedenen Umständen zu ersehen ist, dem Stamm »Prag« nachsteht, und den Stamm »München«, von Professor Kitt in liebenswürdigster Weise dem Institut überlassen, welcher die Mitte zwischen Stamm »Prag« und »Teplitz« hält. Jedenfalls haben wir es mit drei Stämmen zu tun, welche in bezug auf Infektiosität nichts zu wünschen übrig lassen, indem Kaninchen, Mäuse und Vögel bei jeder Impfart mit ans Fabelhafte grenzenden geringen Mengen in kürzester Zeit septikämisch starben. Zur Immunitätsprüfung wurden nur die empfindlichsten Tiere, Kaninchen, Mäuse und Vögel verwendet, von welchen die ersten den höchsten Rang einnehmen. Wir können uns nicht vorstellen, dafs ein Tier gegen einen Infektionserreger eine höhere Empfänglichkeit aufweisen kann als das Kaninchen gegen den Hühnercholerabazillus.

Es wurde zu diesen Untersuchungen das Immunserum von vier Kaninchen verwendet, welche nach obigem Schema mit sterilisiertem Pleuraexsudat von intrapleural infizierten Kaninchen behandelt waren: Kaninchen IV, Kaninchen VIII, Kaninchen VII und Kaninchen VI. Es seien im folgenden die Versuchsprotokolle der Immunitätsergebnisse bei weifsen Mäusen mitgeteilt, welche, wie erwähnt, hohe Empfänglichkeit gegen die Bakterien der Geflügelcholera besitzen. Das Immunserum wurde am Abend, die Bakterien am folgenden Morgen eingespritzt, weil für eine praktische Verwertung dieser Methode nur eine solche Anwendungsweise von Vorteil sein konnte. Sowohl Immunserum als auch Bazillen wurden unter die Haut des Rückens injiziert. Die Infektion mit $^1/_{10}$ Tropfen wurde so vorgenommen, dafs 1 Tropfen Bouillonkultur in 1 ccm NaCl aufgeschwemmt und davon $^1/_{10}$ ccm eingespritzt wurde.

Das zu den folgenden Versuchen verwendete Immunserum stammte von Kaninchen IV, welches durch acht Injektionen 63 ccm Exsudat bekommen hatte.

### Infektion mit Stamm „Prag".

Maus a (Kontrolle). 1 ccm normales Kaninchenserum subkutan; nach 12 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Stirbt nach genau 24 Stunden. Im Herzblute mikroskopisch massenhaft Bazillen.

Maus b. 1 ccm Immunserum subkutan; nach 12 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

Maus c. $^1/_2$ ccm Immunserum subkutan; nach 12 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

Maus d. $^1/_{10}$ ccm Immunserum subkutan; nach 12 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

### Infektion mit Stamm „Teplitz".

Maus a (Kontrolle). 1 ccm normales Kaninchenserum subkutan; nach 12 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Stirbt früher als in 19 Stunden. Im Herzblut mikroskopisch massenhaft Bazillen.

Maus b. 1 ccm Immunserum subkutan; nach 12 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

Maus c. $^1/_2$ ccm Immunserum subkutan; nach 12 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

Maus d. $^1/_{10}$ ccm Immunserum subkutan; nach 12 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

### Infektion mit Stamm „München".

Maus a (Kontrolle). 1 ccm normales Kaninchenserum subkutan; nach 12 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Stirbt früher als in 19 Stunden. Im Herzblut mikroskopisch massenhaft Bazillen.

Maus b. 1 ccm Immunserum subkutan; nach 12 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

Maus c. $^1/_2$ ccm Immunserum subkutan; nach 12 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

Maus d. $^1/_{10}$ ccm Immunserum subkutan; nach 12 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

Das Immunserum für diese Versuche lieferte Kaninchen VIII, welches durch fünf Injektionen 58 ccm Exsudat erhalten hatte.

### Infektion mit Stamm „Prag".

Maus a (Kontrolle). 1 ccm normales Kaninchenserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Stirbt nach weniger als 18 Stunden. An der Infektionsstelle schmieriges Infiltrat, darin mikroskopisch massenhaft Bazillen. Herzblut wimmelnd von Bazillen.

Maus b. 1 ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

Maus c. $^1/_2$ ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

Maus d. $^1/_{10}$ ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

### Infektion mit Stamm „Teplitz".

Maus a (Kontrolle). 1 ccm normales Kaninchenserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Stirbt nach weniger als 18 Stunden. An der Infektionsstelle graues, schmieriges Infiltrat, im Anstrich von demselben massenhaft Bazillen. Im Herzblut mikroskopisch massenhaft Bazillen.

Maus b. 1 ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

Maus c. $^1/_2$ ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

Maus d. $^1/_{10}$ ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

### Infektion mit Stamm „München".

Maus a (Kontrolle). 1 ccm normales Kaninchenserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Stirbt nach 24 Stunden. An der Infektionsstelle im Infiltrat mikroskopisch massenhaft Bazillen. Herzblut wimmelnd von Bazillen.

Maus b. 1 ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

Maus c. $^1/_2$ ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

Maus d. $^1/_{10}$ ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

Das Immunserum zu dem folgenden Versuche stammte von Kaninchen VII, welches durch acht Injektionen 57 ccm Exsudat erhalten hatte.

### Infektion mit Stamm „Prag".

Maus a (Kontrolle). 1 ccm normales Kaninchenserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Stirbt nach weniger als 18 Stunden. Im Infiltrate an der Infektionsstelle und im Herzblute mikroskopisch massenhaft Bazillen.

Maus b. $^3/_4$ ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

Maus c. $^1/_2$ ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

Maus d. $^1/_{10}$ ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

### Infektion mit Stamm „Teplitz".

Maus a (Kontrolle). 1 ccm normales Kaninchenserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Stirbt nach weniger als 18 Stunden. Im Herzblute und im Infiltrate mikroskopisch massenhaft Bazillen.

Maus b. $^3/_4$ ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

Maus c. $^1/_2$ ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

Maus d. $^1/_{10}$ ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

### Infektion mit Stamm „München".

Maus a (Kontrolle). 1 ccm normales Kaninchenserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Stirbt nach 22 Stunden. Im Herzblute und im Infiltrate an der Infektionsstelle mikroskopisch massenhaft Bazillen.

Maus b. $^3/_4$ ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

Maus c. $^1/_2$ ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

Maus d. $^1/_{10}$ ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. (An der Schwanzwurzel im Glase eingeklemmt in der Frühe — nach weniger als 18 Stunden — tot aufgefunden. Im Herzblute und im Infiltrate massenhaft Bazillen).

Die Immunisierung in dem folgenden Versuche wurde mit dem Blutserum von Kaninchen VI ausgeführt, welches durch sechs Injektionen 49 ccm Exsudat erhalten hatte.

### Infektion mit Stamm „Prag".

Maus a (Kontrolle). 1 ccm normales Kaninchenserum subkutan: nach 14 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Stirbt nach weniger als 18 Stunden. Im Infiltrate der Infektionsstelle und im Herzblute mikroskopisch massenhaft Bazillen.

Maus b. 1 ccm Immunserum subkutan; nach 14 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

Maus c. $^1/_2$ ccm Immunserum subkutan; nach 14 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

Maus d. $^1/_{10}$ ccm Immunserum subkutan; nach 14 Stunden $^1/_{10}$ ccm Bouillonkultur subkutan. Lebt.

### Infektion mit Stamm „Teplitz".

Maus a (Kontrolle). 1 ccm normales Kaninchenserum subkutan; nach 14 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Stirbt nach weniger als 18 Stunden. An der Infektionsstelle und im Herzblute mikroskopisch massenhaft Bazillen.

Maus b. 1 ccm Immunserum subkutan; nach 14 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

Maus c. $^1/_2$ ccm Immunserum subkutan; nach 14 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

Maus d. $^1/_{10}$ ccm Immunserum subkutan; nach 14 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

**Infektion mit Stamm „München".**

Maus a (Kontrolle) 1 ccm normales Kaninchenserum subkutan; nach 14 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Stirbt nach weniger als 18 Stunden. Im Herzblute und an der Infektionsstelle mikroskopisch massenhaft Bazillen.

Maus b. 1 ccm Immunserum subkutan; nach 14 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

Maus c. $^1/_2$ ccm Immunserum subkutan; nach 14 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

Maus d. $^1/_{10}$ ccm Immunserum subkutan; nach 14 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

Wir entnehmen aus diesen Versuchen in übereinstimmender Weise, dafs alle hier zur Verwendung gelangten Immunsera in Mengen von $^1/_{10}$ ccm Mäuse schützen gegen eine die Kontrolltiere in weniger als 24 Stunden tötende Bakteriendosis. Bei sämtlichen Kontrolltieren wurde stets die dem Immunserum entsprechende Menge normales Serum gegeben, weil Voges gerade bei den Bakterien der hämorrhagischen Septikämie die Beobachtung gemacht hatte, dafs normale Sera von verschiedenen Tieren Resistenzerhöhung verursachen. Es darf jedoch nicht übersehen werden, dafs Voges mit Meerschweinchen arbeitete, welche gegen die hämorrhagische Septikämie natürliche Resistenz besitzen, worauf auch Kitt hinweist, ferner dafs Voges als Infektionsort die Peritonealhöhle wählte, wo eine nicht spezifische künstlich erzeugte Resistenz stets am stärksten ausgesprochen ist. Bei unseren Versuchen, weder bei Mäusen noch bei Kaninchen und Vögeln, wo bei den Kontrolltieren stets normales Serum injiziert wurde, konnte nie eine Spur jener Resistenzerhöhung beobachtet werden, wie aus diesen und den folgenden Versuchen ersichtlich ist. Vielleicht ist dies darauf zurückzuführen, dafs als Infektionsort die Subcutis gewählt wurde, oder darauf, dafs die hohe Pathogenität der hier verwendeten Stämme oder das natürlich empfängliche Tier dabei eine Rolle spielt. Das soll jedoch nicht entschieden werden.

Nach der Infektion zeigen die Mäuse kurze Zeit — einen Tag — geringe Krankheitserscheinungen, es tritt auch manchmal an der Infektionsstelle eine geringe Infiltration auf, welche jedoch rasch schwindet. Alle hier verwendeten Mäuse wurden mindestens drei Wochen beobachtet, damit sicher festgestellt werden konnte, ob der Schutz nicht vielleicht nur in einer Lebensverlängerung besteht. Auch entnimmt man aus diesen Versuchen, dafs Unterschiede im Sinne einer Polyvalenz nicht bestehen, denn in bezug auf die drei hier verwendeten Stämme liefs sich eine solche nicht feststellen, und es ist auch, wie wir aus dem folgenden ersehen werden, eine solche nicht anzunehmen.

Nun folgen die Immunisierungsversuche mit Kaninchen, auf deren hohe Empfänglichkeit schon hingewiesen wurde. Zu den folgenden Versuchen wurden ausschliefslich junge bis 800 g schwere Kaninchen verwendet, welche den höchsten Grad der Empfindlichkeit darstellen. Auch bei diesen Versuchen wurde die Serumbehandlung am Abend vor der Infektion vorgenommen. Serum- und Bakterieneinspritzung wurde an verschiedenen Körperstellen ausgeführt. Zur Immunitätsprüfung wurden die Sera der vier gennannten Kaninchen verwendet und zur Infektion dienten die drei zur Verfügung stehenden Stämme.

Das zu den folgenden Versuchen verwendete Immunserum stammte von Kaninchen VI.

### Infektion mit Stamm „Prag".

Kaninchen I. 1 ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Nach 24 Stunden haselnufsgrofses Infiltrat. Nach 1 Woche Infiltrat nekrotisch. Nach 14 Tagen Infiltrat verschwunden. Lebt.

Kaninchen II. $^1/_2$ ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Nach 24 Stunden flaches, talergrofses Infiltrat. Nach 6 Tagen gestorben. An der Infektionsstelle ausgedehntes, zum Teil nekrotisches Infiltrat, am Rand desselben frisches Ödem. Im Herzblut mikroskopisch vereinzelte Bazillen.

### Infektion mit Stamm „Teplitz".

Kaninchen I. 1 ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Schon am Tage der Infektion deutlich krank. Nach 24 Stunden erbsengrofses Infiltrat. Stirbt nach 3 Tagen. Eitrige Pleuritis und Perikarditis (Seuche).

Kaninchen II. $^1/_2$ ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur, subkutan. Nach 24 Stunden erbsengrofses Infiltrat. Nach 1 Woche verflachtes, hellergrofses, nekrotisches Infiltrat. Nach 14 Tagen Infiltrat verschwunden. Lebt.

### Infektion mit Stamm „München".

Kaninchen I. 1 ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Nach 24 Stunden haselnufsgrofses Infiltrat. Nach 8 Tage Infiltrat nekrotisch. Nach 2 Wochen Infiltrat verschwunden. Lebt.

Kaninchen II $^1/_2$ ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Stirbt nach 48 Stunden. In der Bauchhöhle dicker Eiter, darin mikroskopisch Stäbchen, Fäden und Hefen. (Wahrscheinlich intraperitoneal infiziert und Darm angestochen. An der Infektionsstelle subkutan keine Erscheinungen.

Die sicher schützende Dosis dieses Immunserums beträgt 1 ccm. $^1/_2$ ccm Immunserum hat, wie aus Kaninchen II »Prag« zu ersehen ist, lediglich eine sechstägige Lebensverlängerung zur Folge. Kaninchen I »Teplitz« erlag der Kaninchenseuche (chronische Hühnercholera in der Form der Pyämie ist hier sicher auszuschliefsen), welche leider das ganze Jahr unter den jungen Kaninchen in unseren Ställen wütet, und gerade zu der Zeit, als diese Versuche ausgeführt wurden, im Rückgange war; sonst wäre ein Arbeiten mit jungen Kaninchen, die lange Zeit beobachtet werden mufsten, überhaupt unausführbar gewesen. Kaninchen II »München« ist wahrscheinlich ein unglücklicher Zufall.

Das Immunserum für die folgenden Versuche lieferte Kaninchen IV.

### Infektion mit Stamm „Prag".

Kaninchen I. 1 ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Nach 2 Tagen starken Nasenfluís. Stirbt nach 5 Tagen. Eitrige Rhinitis (Seuche). An der Infektionsstelle scharf begrenztes, zum Teil nekrotisches Infiltrat. Darin mikroskopisch Bazillen. Im Herzblut mikroskopisch keine Bazillen. Herzblut kulturell steril.

Kaninchen II. $^1/_2$ ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Nach 2 Tagen erbsengrofses Infiltrat. Nach 4 Tagen Infiltrat talergrofs, hart. Nach 1 Woche Infiltrat nekrotisch. Nach 14 Tagen Infiltrat verschwunden. Lebt.

### Infektion mit Stamm „Teplitz".

Kaninchen I. 1 ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Nach 2 Tagen erbsengrofses Infiltrat. Nach

8 Tagen Infiltrat nekrotisch. Nach 2 Wochen Infiltrat verschwunden. Lebt.

Kaninchen II. $^1/_2$ ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Nach 48 Stunden erbsengroſses Infiltrat. Nach 1 Woche Infiltrat nekrotisch. Nach 14 Tagen Infiltrat verschwunden. Lebt.

**Infektion mit Stamm „München".**

Kaninchen I. 1 ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Nach 2 Tagen haselnuſsgroſses Infiltrat. Nach 1 Woche Infiltrat nekrotisch. Nach 2 Wochen Infiltrat verschwunden. Lebt.

Kaninchen II. $^1/_2$ ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Nach 2 Tagen Infiltrat haselnuſsgroſs. Nach 1 Woche Infiltrat nekrotisch. Nach 2 Wochen Infiltrat verschwunden. Lebt.

Das Immunserum dieses Kaninchens schützt sicher in der Dosis von $^1/_2$ ccm. Kaninchen I »Prag« hatte die Infektion mit Hühnercholera vollständig überwunden, wie aus dem sterilen Herzblutbefund hervorgeht, und wurde ein Opfer der Kaninchenseuche. (Eitrige Rhinitis.)

Für die folgenden Versuche wurde das Immunserum von Kaninchen VII verwendet.

**Infektion mit Stamm „Prag".**

Kaninchen III. 1 ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Nach 2 Tagen walnuſsgroſses Infiltrat. Nach 1 Woche Infiltrat nekrotisch. Nach 2 Wochen Infiltrat verschwunden. Lebt.

Kaninchen II. $^1/_2$ ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Nach 2 Tagen Infiltrat walnuſsgroſs. Nach 5 Tagen Infiltrat verflacht, handtellergroſs. Nach 10 Tagen beginnt es nekrotisch zu werden. Nach 14 Tagen vollständig nekrotisch. Nach 3 Wochen verschwunden. Lebt.

**Infektion mit Stamm „Teplitz".**

Kaninchen I. 1 ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Nach 5 Tagen erbsengroſses Infiltrat. Nach 1 Woche vollständig nekrotisch. Nach 14 Tagen verschwunden. Lebt.

Kaninchen II. $^1/_2$ ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Nach 2 Tagen erbsengroſses Infiltrat. Nach 1 Woche Infiltrat nekrotisch. Nach 14 Tagen verschwunden. Lebt.

**Infektion mit Stamm „München".**

Kaninchen I. 1 ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Nach 5 Tagen hellergroſses, flaches Infiltrat. Nach 8 Tagen Infiltrat nekrotisch. Nach 14 Tagen verschwunden. Lebt.

Kaninchen II. $^1/_2$ ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Nach 5 Tagen talergrofses Infiltrat. Nach 8 Tagen Infiltrat nekrotisch. Nach 14 Tagen Infiltrat verschwunden. Lebt.

Da die vorangehenden Kaninchenversuche gleichzeitig ausgeführt wurden, so ergab sich nur die Notwendigkeit, je ein Kontrolltier für jeden Stamm zu verwenden. Kontrolltiere wären jedoch für solche Versuche vollständig überflüssig. Die Infektion wurde hier mit der halben Bakterienmenge vorgenommen.

**Infektion mit Stamm „Prag".**

Kaninchen I (Kontrolle). 1 ccm normales Kaninchenserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{20}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Stirbt nach 12 Stunden. An der Infektionsstelle geringes Ödem. Mikroskopisch im Aufstrich von demselben massenhaft Bazillen. Im Herzblut mikroskopisch massenhaft Bazillen. In der Brusthöhle klare Flüssigkeit.

**Infektion mit Stamm „Teplitz".**

Kaninchen II (Kontrolle). 1 ccm normales Kaninchenserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{20}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Stirbt nach weniger als 20 Stunden. An der Infektionsstelle geringes, blutiges Ödem, darin mikroskopisch massenhaft Bazillen. Im Herzblut mikroskopisch wimmelnd von Bazillen. In der Pleura- und Peritonealhöhle klare Flüssigkeit.

**Infektion mit Stamm „München".**

Kaninchen III (Kontrolle). 1 ccm normales Kaninchenserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{20}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Stirbt nach weniger als 20 Stunden. An der Infektionsstelle geringe Reaktion, etwas Ödem, darin mikroskopisch massenhaft Bazillen. Im Herzblut mikroskopisch massenhaft Bazillen. In der Brusthöhle klares Transsudat.

Das Immunserum zu dem folgenden Versuche lieferte Kaninchen VIII.

**Infektion mit Stamm „Prag".**

Kaninchen I (Kontrolle). 1 ccm normales Schafserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Stirbt in weniger als 16 Stunden. An der Infektionsstelle diffusses ödematöses Infiltrat. Darin und im Herzblute mikroskopisch enorme Mengen Bazillen.

Kaninchen II. 1 ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Nach 24 Stunden erbsengrofses Infiltrat. Nach 2 Tagen Infiltrat haselnufsgrofs. Nach 5 Tagen Infiltrat walnufsgrofs, verhärtet. Nach 14 Tagen Infiltrat derb, nekrotisch, käsigen Eiter entleerend. Nach 3 Wochen Infiltrat verschwunden. Lebt.

Kaninchen III. $^1/_2$ ccm Immunserum subkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Nach 24 Stunden erbsengrofses Infiltrat.

Nach 2 Tagen Infiltrat vergröfsert, doch scharf von der Umgehung abgegrenzt. Nach 8 Tagen Infiltrat von der Gröfse eines kindlichen Handtellers, fiach, derh. Nach 14 Tagen Infiltrat nekrotisch. Nach 3 Wochen Infiltrat verschwunden. Leht.

### Infektion mit Stamm „Teplitz".

Kaninchen I (Kontrolle) 1 ccm normales Kaninchenserum snhkntan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Boulllonkultur subkutan. Stirht nach weniger als 16 Stunden. An der Infektionsstelle fast keine Reaktion. Im Aufstrich von der Infektionsstelle mikroskopisch massenhaft Bazillen, ebenfalls mikroskopisch im Herzblute.

Kaninchen II. 1 ccm Immunserum suhkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Nach 24 Stnnden erbsengrofses, scharf abgegrenztes Infiltrat. Nach 2 Tagen Infiltrat hart. Nach 8 Tagen Infiltrat nekrotisch. Nach 14 Tagen Iufiltrat verschwunden. Lebt.

Kaninchen III. $^1/_2$ ccm Immunserum suhkntan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bonillonknltur subkutan. Nach 24 Stunden Infiltrat walnnfsgrofs. Nach 8 Tagen Infiltrat nekrotisch. Nach 2 Wochen Infiltrat verschwunden Lebt.

### Infektion mit Stamm „München".

Kaninchen I (Kontrolle). 1 ccm normales Kaninchenserum suhkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Boulllonkultur subkutan. Stirht nach 20 Stunden. An der Infektionsstelle diffuses Ödem. Darin und im Herzhlute mikroskopisch massenhaft Bazillen. In der Brusthöhle klare Flüssigkeit.

Kaninchen II. 1 ccm Immunserum snhkutan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultnr suhkutan. Nach 24 Stunden erbsengrofses Infiltrat. Nach 48 Stnnden Infiltrat walnufsgrofs; heginnt am oheren Ende sich zn verhärten. Nach 8 Tagen Infiltrat ganz hart, beginnt nekrotisch zu werden. Nach 14 Tagen Infiltrat nekrotisch. Nach 3 Wochen Infiltrat verschwunden. Leht.

Kaninchen III. $^1/_2$ ccm Immunserum suhkntan; nach 16 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur suhkutan. Nach 24 Stnnden hohnengrofses Infiltrat. Nach 8 Tagen Infiltrat fiach, handtellergrofs, derh, hart. Nach 14 Tagen Infiltrat nekrotisch. Nach 3 Wochen Infiltrat verschwunden. Leht.

Wir entnehmen aus diesen Versuchsprotokollen, dafs die hier verwendeten Immunsera Kaninchen in der Dosis von $^1/_2$ ccm sicher schützen, gegen eine Bakterienmenge, welche die Kontrolltiere in weniger als 20 Stunden tötet. Die immunisierten Tiere reagieren auf die Infektion mit der Ausbildung von Infiltraten, die sich im Laufe der ersten Tage vergröfsern, dann stationär bleiben, sich verhärten und schliefslich nekrotisch werden. Solange letzterer Umstand nicht eingetreten ist, sind die Tiere noch

in Gefahr, das Leben zu verlieren. (Kaninchen II »Prag«. S. 157.) Das nekrotische Infiltrat jedoch wird rasch resorbiert und die Tiere, die manchmal unter dem Einflufs der Infiltrate zu leiden haben, erholen sich dann rasch. Man mufs, um von der sicheren Wirkung des Immunserums überzeugt zu sein, die Tiere so lange in Beobachtung halten, als das Infiltrat nekrotisch zu werden beginnt. Die Kaninchen dieser Versuche wurden mindestens drei Wochen und länger beobachtet.

Von den drei Bakterienstämmen setzt die geringsten Veränderungen der Stamm »Teplitz«. Die Infiltrate bei den immunisierten Tieren erreichen nie eine nennenswerte Gröfse und schwinden rasch. Am stärksten sind die Infiltrate auffallenderweise beim Stamm »Prag« ausgebildet, gegen den die Tiere immunisiert waren. Auch dieser Umstand spricht gegen die Wirkung des Immunserums im Sinne einer Polyvalenz. Der Stamm »München« hält betreffs der Erscheinungen an der Infektionsstelle die Mitte zwischen beiden. Es hat doch den Anschein, dafs die Intensität der Reaktionserscheinungen am Infektionsorte, d. i. die Ausbildung der Infiltrate, mit der Stärke der Aggressivität dieser drei Stämme in Zusammenhang gebracht werden mufs. Wir müssen uns vorstellen, dafs die Wirkung eines Hühnercholera-Immunserums gegen die Vermehrungsfähigkeit der Bakterien, gegen ihre Aggressivität, gerichtet sein mufs. Ein stark wirkendes Immunserum wird die Vermehrungsfähigkeit der Bakterien stark hemmen, oder umgekehrt, wird jener Bakterienstamm die stärkste Aggressivität aufweisen, welcher sich trotz des Immunserums noch an der Infektionsstelle zu vermehren vermag. Der Einbruch und die Vermehrung im Blute wird ein sicher wirkendes Immunserum stets zu verhindern imstande sein. Wir sind nun aus dem Grunde geneigt, dem Stamm »Prag« der infolge seiner Vermehrung am Infektionsorte die Ausbildung der Infiltrate bedingt, die stärkste Aggressivität zuzuschreiben. Der fortwährende Aufenthalt dieses Stammes im Tier wird wohl als Grund hierfür angesehen werden müssen. Der Virulenz nach, d. h. was die Zahl der einzuführenden Keime betrifft, um ein Tier zu töten, bestehen in bezug auf diese drei Stämme keine Unterschiede.

Alle drei sind imstande, vielleicht in einem Bakterienexemplar ein Kaninchen zu töten, die Differenzen dieser drei Bakterienstämme beziehen sich nur auf ihre Aggressivität.

Um eine hohe Immunität zu erzeugen, ist es auch notwendig, mit einem möglichst aggressiven Stamm die zur Immunisierung verwendeten Exsudate zu gewinnen; denn von der Stärke der Aggressivität wird hauptsächlich der antiaggressive Zustand des Tieres abhängen. Exsudate, denen durch Erhitzen die Aggressivität genommen ist, wirken nur schwach oder gar nicht immunisatorisch, wie wir aus Versuchen von Bail bei Typhusbazillen wissen. Bei den hämorrhagischen Septikämieerregern die Virulenz für Kaninchen zu steigern, wird man kaum nötig haben, anders ist es aber mit der Aggressivität, wie man es besonders schön bei Schweineseuche beobachten kann. Man sieht im Laufe der Tierpassagen das Exsudat gewissermafsen aggressiv werden. Die anfangs dicke, zähe, zellreiche Flüssigkeit wird dünn, die Zellen schwinden, Bakterien finden sich in Unmengen vor, Phagocytose ist nie zu beobachten. Derartige Exsudate sind für die Immunisieruug die geeignetsten.

Über den Mechanismus der Aggressinimmunität läfst sich vorderhand nichts Bestimmtes aussagen. In einer früheren Arbeit über die aktive Immunität bei Hühnercholera konnte durch die Aggressintheorie die Pasteursche Immunisierungsmethode damit erklärt werden, dafs durch geeignete Abschwächungsmethoden (Luftzutritt) den Hühnercholerabazillen ein Teil ihrer Aggressivität genommen wird, so dafs diese Bakterien, in den Tierkörper gelaugt, nicht mehr so viel Aggressin bilden, als zur schrankenlosen Vermehrung ausreicht. Infolge dieses Defektes ihrer Aggressivität verhalten sich diese Bakterien wie Halbparasiten, die das Tier nicht mehr unter allen Umständen töten. Das durch die Vermehrung im Infiltrate gebildete Aggressin reicht jedoch aus, nach der Resorption das Tier immun zu machen. Haben wir nun ein Tier mit Immunserum behandelt und spritzen darnach virulente Bazillen ein, so entstehen ebenfalls durch die eingeführten Bakterien Infiltrate, welche vollständig denen durch die Pasteurschen Vaccins entstandenen entsprechen. Das dem

Tier einverleibte Immunserum übt im Tierkörper dieselbe Wirkung auf die Bakterien aus, die Pasteur extra corpus durch Abschwächungsmethoden erzielt hat, es nimmt den Bakterien ihre unbegrenzte Vermehrungsfähigkeit, ihre Aggressivität. Aus dem Grunde wollen wir dieses Immunserum als antiaggressives bezeichnen. Dafs das Immunserum nicht bakteriolytische Wirkung entfaltet, zeigt schon der Umstand, dafs sich die Bakterien im Infiltrate der immunen Tiere vermehren und ihre Virulenz ungeschwächt beibehalten.

Wir müssen auch in Erwägung ziehen, dafs der Schutzwert von $^1/_2$ ccm Immunserum schon ein sehr hoher ist. Wir dürfen denselben selbstverständlich nicht mit einem bakteriziden oder antitoxischen Serum in Parallele setzen, wo Bruchteile von tausendstel Kubikzentimeter Schutz verleihen. Denn dabei ist der Schutz gegen die einfach tödliche Dosis gerichtet. In unserem Falle ist aber die einfach tödliche Dosis eine Bakterienzelle. Es sei hier auf eine Äufserung von Sobernheim im Handbuch von Wassermann und Kolle hingewiesen, der von einem hochwertigen Milzbrandimmunserum folgendes verlangt: »Wenn z. B. von sechs Kaninchen, die mit steigenden Mengen von 1—6 ccm Serum intravenös behandelt und kurz darauf mit $^1/_{1000}$ Öse virulenter Milzbrandkultur subkutan geimpft werden, die Hälfte oder gar mehr mit dem Leben davonkommen, auch die übrigen später als die Kontrolltiere sterben, so ist dies ein Resultat, wie es nur von einem hochwertigen Serum zu erwarten ist.« Wir sehen, dafs die Ansprüche, die man an ein Immunserum stellt, das gegen septikämische, intensiv vermehrungsfähige Keime gerichtet ist, recht bescheidene sind. Immerhin sind die Resultate, die man durch Immunisierung mit aggressivem Exsudat bekommt, ungleich bessere. So kann Bail durch eine einmalige Injektion von $^1/_2$ ccm antiaggressiven Immunserums jedes Kaninchen sicher gegen virulenten Milzbrand schützen. Ebenso verleiht, wie aus den vorhergehenden Versuchen ersichtlich, $^1/_2$ ccm Immunserum den Kaninchen sicheren Schutz gegen Hühnercholerabakterien, welche, was Aggressivität anlangt, den Milzbrand sicher überragen.

Es erübrigt noch, auf einen Punkt im Anschluſs an die Kaninchenversuche einzugehen. Wir wissen, daſs der übertragene Schutz nur kurze Zeit, zwei Wochen wird im allgemeinen angenommen, andauert, was wohl auch beim Hühnercholera-Immunserum der Fall sein wird. Nun bleiben aber die Bakterien noch sehr lange im Infiltrate lebensfähig und virulent. Man müſste also denken, daſs theoretisch aus dem Grunde eine passive Immunisierung unmöglich wäre, da zu einer Zeit, wo der passive Impfschutz schon geschwunden ist, die noch lebenden Bazillen das Tier töten. Die praktische Erfahrung spricht jedoch dagegen. Dieser Umstand wird sich wohl damit erklären lassen, daſs durch die Aufsaugung der Infiltrate, die beim passiv immunisierten Tiere entstehen, die Tiere nachher aktiv immun werden, wie durch Impfung mit Pasteurschen Vaccins.

Was die Immunisierungsversuche mit Vögeln anlangt, so sind dieselben nicht so günstig. Das Kaninchenimmunserum schützt zwar Tauben, — andere Vögel wurden bisher nicht untersucht —, doch sind die Resultate nicht so befriedigend wie die mit Kaninchen und Mäusen.

Das hierzu verwendete Immunserum stammte von Kaninchen VI. Die Infektion wurde mit Stamm »Prag« vorgenommen.

Taube I (Kontrolle). 2 ccm normales Kaninchenserum subkutan; nach 14 Stunden $^1/_{20}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Stirbt nach 21 Stunden. An der Infektionsstelle harte Schwellung von gelblichweiſser Farbe, auf die Muskulatur übergreifend. Im Infiltrate mikroskopisch enorme Mengen von Bazillen, keine Zellen. Das Herzblut mikroskopisch wimmelnd von Bazillen.

Taube II. 2 ccm Immunserum subkutan. Nach 14 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Nach 48 Stunden bohnengroſse, harte, begrenzte Infiltration. Nach drei Tagen Infiltrat unverändert. Nach 8 Tagen gestorben. Im Infiltrate zahlreiche, im Herzblut mikroskopisch spärliche Bazillen.

Taube III. 1 ccm Immunserum subkutan; nach 14 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Nach 48 Stunden wie Taube III. Nach 3 Tagen ebenso. Stirbt nach 5 Tagen. Im Infiltrate an der Infektionsstelle zahlreiche Bazillen, im Herzblute mikroskopisch sehr spärliche Bazillen.

Taube IV. 0,25 ccm Immunserum subkutan; nach 14 Stunden $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Nach 48 Stunden mehr diffuse, weiche, erbsen-

grofse Infiltration. Nach 3 Tagen Infiltration derb, hart. Nach 5 Tagen ebenso. Nach 14 Tagen Infiltrat verschwunden. Lebt.

Die individuelle Verschiedenheit dieser Taube dürfte der Grund für das Überleben sein.

In einer früheren Arbeit konnte gezeigt werden, dafs die aktive Immunisierung von Hühnern und Tauben mit Kaninchenexsudat relativ leicht gelingt und eine vollkommene ist. Wenn nun die passive Immunität mit Kaninchenimmunserum bei Tauben teilweise versagt, so dürfte die Ursache davon in dem eigentümlichen Verhältnis homologer und heterologer Sera begründet sein. Dabei darf nicht vergessen werden, dafs die Heterologie in diesen Versuchen eine zweifache ist, indem einerseits das Kaninchenimmunserum eine Tauben fremdartige Flüssigkeit ist, anderseits die Kaninchen mit Kaninchenexsudat also ebenfalls einer Tauben fremden Flüssigkeit behandelt wurden. Das dürfte nicht ohne Einflufs sein. Das Aggressin mufs ja, auch wenn es von verschiedenen Tieren stammt, im Prinzip dasselbe sein, geringe, vielleicht nur quantitative Differenzen lassen sich wohl je nach der verwendeten Tierart erwarten. Bei Mäusen, und wie wir auch sehen werden bei Meerschweinchen kommen diese Umstände weniger in Betracht, vielleicht aus dem Grunde, weil sie als Nager dem Kaninchen verwandte Tiere sind. Mit Sicherheit läfst sich aber über diese komplizierten Verhältnisse nichts aussagen. Doch läfst sich erwarten, dafs ein höherwertiges Immunserum, von geeigneten Tieren gewonnen, auch bei Vögeln sichere Resultate erzielen wird.

Alle vorhergehenden Versuche wurden, wie schon des öfteren erwähnt und auch aus den Versuchsprotokollen ersichtlich ist, derart ausgeführt, dafs das Immunserum mehrere Stunden vor den Bakterien gegeben wurde. Dieser Infektionsmodus wurde teils aus dem Grunde gewählt, weil für eine praktische Anwendung nur eine solche Immunisierungsart in Betracht kommen konnte, teils auch deshalb, weil wir es hier nicht mit einem bakteriziden oder antitoxischen Serum zu tun haben. Der Schutz, den ein bakterizides Immunserum verleiht, ist sofort gegeben, denn die

gleichzeitig eingespritzten Keime, die mit Immunkörpern beladen sind, finden im Tierkörper Komplement vor und werden aufgelöst, und sind, wenn die durch die Auflösung freiwerdende Giftmenge nicht zu grofs ist, um von den Leukozyten paralysiert zu werden, dem Organismus unschädlich. Vorzeitig einverleibt, wirkt das bakterizide Immunserum, wie die Erfahrung ergibt, ungleich schwächer. Ebenso wirkt das gleichzeitig mit dem Toxin eingespritzte antitoxische Immunserum sofort, weil es ja schon im Glase das Gift unwirksam macht. Andere Verhältnisse liegen jedoch beim antiaggressiven Immunserum vor, da die eingeführten Keime nicht abgetötet werden, sondern nur ihre intensive Vermehrung gehemmt wird. Wenn wir also ein antiaggressives Immunserum gleichzeitig mit den Bazillen einspritzen, so wird vielleicht schon die Zeit, welche verstreicht, bis das Immunserum resorbiert ist und in die Gewebssäfte übergeht, während welcher es noch keinen Schutz verleiht, genügen, dafs sich die Bakterien schon zu sehr vermehrt haben; denn die Vermehrung der Hühnercholerabakterien setzt beim Kaninchen im Gegensatz zum Milzbrand sofort ein. Das Immunserum wird also nach dieser Zeit aufserstande sein, gegen die zu grofse Bakterienmenge zu schützen. Denn jede Immunität, und besonders die passive, ist begrenzt und kann gebrochen werden. Immerhin mufste bei einem hochwertigen Immunserum dieser Umstand in Wegfall kommen. Aus dem Grunde wurde Kaninchen IV höher immunisiert, und mit dem Blutserum dieses Tieres wurden die nachfolgenden Versuche an Kaninchen und Mäusen ausgeführt.

Das hier verwendete Immunserum stammte von Kaninchen IV[1]), welches inzwischen durch zwei neuerliche Injektionen um 70 ccm Exsudat mehr bekommen hatte.

1) Siehe S. 151. Es sei hier darauf hingewiesen, dafs man mit dem Karbolzusatz behufs Sterilisierung der Exsudate — dieselbe wurde in der früheren Publikation über Hühnercholera genau beschrieben — bei Anwendung so grofser Exsudatmengen wie 30 oder 40 ccm heruntergeben mufs, damit die Tiere nicht einer Karbolvergiftung erliegen. Dieser Umstand ist oft recht schwierig, hängt zum grofsen Teile von der Zahl der Keime im Exsudate ab und lassen sich da leider genaue Vorschriften nicht geben.

### Infektion mit Stamm „Prag".

Maus I (Kontrolle). 1 ccm normales Kaninchenserum subkutan; gleich darauf $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Stirbt nach weniger als 14 Stunden. An der Infektionsstelle und im Herzblut mikroskopisch massenhaft Bazillen.

Maus II. 0,75 ccm Immunserum subkutan; gleich darauf $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

Maus III. 0,25 ccm Immunserum subkutan; gleich darauf $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

### Infektion mit Stamm „Teplitz".

Maus I (Kontrolle). 1 ccm normales Kaninchenserum subkutan; gleich darauf $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Stirbt nach 20 Stunden. An der Infektionsstelle und im Herzblut mikroskopisch massenhaft Bazillen.

Maus II. 0,75 ccm Immunserum subkutan; gleich darauf $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

Maus III. 0,25 ccm Immunserum subkutan; gleich darauf $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

### Infektion mit Stamm „München".

Maus I (Kontrolle). 1 ccm normales Kaninchenserum subkutan; gleich darnach $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Stirbt nach weniger als 14 Stunden. An der Infektionsstelle und im Herzblut mikroskopisch massenhaft Bazillen.

Maus II. 0,75 ccm Immunserum subkutan; gleich darnach $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

Maus III. 0,25 ccm Immunserum subkutan; gleich darauf $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Lebt.

## Immunserum von Kaninchen IV.

### Infektion mit Stamm „Prag".

Kaninchen I (Kontrolle). 1400 g 1 ccm normales Kaninchenserum, auf der einen Seite subkutan; gleich darnach auf der anderen Seite subkutan $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur. Stirbt nach weniger als 14 Stunden. An der Infektionsstelle geringes Ödem, darin mikroskopisch massenhaft Bazillen, keine Zellen. Im Herzblut mikroskopisch wimmelnd von Bazillen. In der Pleurahöhle klare Flüssigkeit.

Kaninchen II. 750 g 1 ccm Immunserum subkutan; gleich darnach auf der anderen Seite $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Nach 48 Stunden an der Infektionsstelle haselnufsgrofses derbes Infiltrat. Nach 8 Tagen Infiltrat nekrotisch. Nach 2 Wochen Infiltrat verschwunden. Lebt.

### Infektion mit Stamm „Teplitz".

Kaninchen I (Kontrolle). 2000 g 1 ccm normales Kaninchenserum, darin aufgeschwemmt $^1/_{20}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Stirbt nach weniger als 18 Stunden. An der Infektionsstelle diffuses, blutiges, geringes Ödem

Darin mikroskopisch massenhaft Bazillen, keine Zellen. Im Herzblute mikroskopisch massenhaft Bazillen. In der Pleura- und Peritonealhöhle klare Flüssigkeit.

Kaninchen II. 850 g 1 ccm Immunserum, darin aufgeschwemmt $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Nach 24 Stunden erbsengrofses, begrenztes Infiltrat. Nach 5 Tagen Infiltrat derb. Nach 1 Woche Infiltrat verschwunden. Lebt.

**Infektion mit Stamm „München".**

Kaninchen I (Kontrolle). 1600 g 1 ccm normales Kaninchenserum subkutan; gleich darnach auf der anderen Seite $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Stirbt nach weniger als 14 Stunden. An der Infektionsstelle geringes blutiges Ödem; darin mikroskopisch massenhaft Bazillen, keine Zellen. Im Herzblute mikroskopisch massenhaft Bazillen. In der Pleurahöhle klare Flüssigkeit.

Kaninchen II. 820 g 1 ccm Immunserum subkutan; gleichzeitig auf der anderen Seite $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan. Nach 48 Stunden erbsengrofses, derbes Infiltrat, scharf begrenzt. Nach 8 Tagen Infiltrat nekrotisch. Nach 14 Tagen Infiltrat vollständig verschwunden. Lebt.

Wir entnehmen daraus, dafs ein hochwertiges Immunserum auch bei gleichzeitiger Einverleibung Mäusen und Kaninchen und, wie wir später sehen werden, Meerschweinchen sicheren Schutz verleiht. Auch geht aus diesen Versuchen hervor, dafs trotz gleichzeitiger Einverleibung die Reaktionserscheinungen an der Infektionsstelle bei Kaninchen viel geringere sind, als in den früheren Versuchen, wo das Immunserum noch nicht so hochwertig war, und es läfst sich erwarten, dafs, wenn die Immunität noch höher getrieben wird, die Infektion bei passiver Immunität ganz reaktionslos verlaufen wird.

Die vollkommen sicheren Resultate, welche die vorangehenden Versuche mit gleichzeitiger Einverleibung des Immunserums und der Bazillen ergaben, liefsen auch Erfolge erwarten, wenn man ein schon infiziertes Tier mit Immunserum behandelt. Kaninchen I (Kontrolle), 820 g, erhält $^1/_{20}$ Tropfen Bouillonkultur Stamm »Prag« und stirbt nach acht Stunden typisch. Kaninchen II, 760 g, erhält $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur und nach zwei Stunden $2^1/_2$ ccm Immunserum von Kaninchen IV. An der Infektionsstelle bildet sich ein handtellergrofses Infiltrat aus, das sich verhärtet, dadurch eine Kontraktur des einen Hinterbeines bedingt. Stirbt nach neun Tagen.

Der rasche Tod des Koutrolltieres ist darauf zurückzuführen, dafs zu diesem Versuche ein der Gröfse des Immuntieres entsprechendes gewählt wurde. Die Kontrolltiere in den früheren Versuchen, wo der Tod nach 12—20 Stunden erfolgte, waren stets gröfsere Tiere; als Immuntiere wurden auch dort, wie schon erwähnt, nur kleine Tiere gewählt. Beim Immuutier dieses Versuches, welches zwei Stunden nach der Infektion, wo sich die Bakterien schon sehr stark vermehrt hatten, mit Serum behandelt wurde und nach neuu Tagen starb, erfolgte der Tod nicht durch die Infektion, denn das Blut enthielt keine Bakterien. Den Tod hatte die Ausbildung des starken Infiltrates an der Infektionsstelle durch Marasmus bedingt. Letzteres hatte die hier angewendete Immunserummeuge nicht zu verhindern vermocht; eine gröfsere Dosis wäre auch hier wirkungsvoll gewesen. Dies konnte aus dem Grunde nicht durchgeführt werden, weil zu diesem Versuche der letzte Rest des Immunserums von Kaniuchen IV aufgebraucht wurde. Jedenfalls spricht schon dieser Versuch für die ungemein starke und sichere Wirkuug des Immunserums.

Hatten schon die Kaninchenimmuuversuche ein vollständiges Fehlen von bakterizideu Eigenschaften des Immunserums ergeben, so war es doch noch von Interesse; die Vorgänge in der Bauchhöhle von passiv immunisierten Meerschweinchen zu verfolgen, um auch dabei zu beobachten, welche Rolle die Leukozyten spielen. Betreffs derselben konnten auch im immunen Kaninchen uie phagozytierende Eigenschaften beobachtet werden; im Infiltrate der immunen Tiere finden sich zwar massenhaft Leukozyten, aber keine Phagozytose, und selbst wenn das Infiltrat nekrotisch wird, finden sich neben Leukozytentrümmern noch immer freie Bazillen. Voges, der intraperitoueale Meerschweinchenversuche mit Schweineseuchebakterien anstellte, fand bei resistenten Tieren, welche die Infektion überstanden, nie Bakteriolyse, auch eine Tätigkeit der Leukozyten als Phagozyten kouute er nicht konstatieren. Die eingespritzten Keime wurden immer spärlicher, und die Bauchhöhle war gewöhnlich nach 48—72 Stunden steril. Bei diesen Versuchen hatte Voges auch die Beobachtung gemacht, dafs auf gleiche Weise das normale Serum von verschie-

denen Tieren, wie das Blutserum von Tieren, die mit den Schweineseuchebakterien vorbehandelt waren, den Meerschweinchen gegen eine intraperitoneale Infektion Schutz verleiht, wenn er das Serum 24 Stunden vor der Infektion einspritzt. Auf gleiche Weise aber blieb sowohl normales Serum als auch Serum von behandelten Tieren, bei gleichzeitiger Einführung oder wenige Stunden vor der Infektion eingeführt, wirkungslos. Wir konnten schon mehrfach darauf hinweisen, dafs wir bei Mäusen, Kaninchen und Tauben bei subkutaner Infektion mit Hühnercholerabakterien nie eine Spur jener Resistenz beobachten konnten; denn die Kontrolltiere, die stets die dem Immunserum entsprechende Menge normalen Serums bekommen, zeigten nie eine dadurch bewirkte Lebensverlängerung oder atypischen Befund. Voges verlangt von der spez. Wirkung eines Immunserums, dafs es, gleichzeitig mit den Bakterien eingespritzt, Schutz verleiht. Es werden auch beim Meerschweinchen in bezug auf die gleichzeitige und vorzeitige Immunserumgabe dieselben Umstände in Betracht zu ziehen sein wie beim Kaninchen. Immerhin wurden die nachfolgenden Versuche mit Meerschweinchen, da wir über ein ziemlich hochwertiges Immunserum verfügten, derart angestellt, dafs Immunserum und Bazillen gleichzeitig intraperitoneal eingespritzt wurden.

Das Immunserum zu diesen Versuchen stammte von Kaninchen IV, welches auch zu den letzten Versuchen verwendet wurde.

**Infektion mit Stamm „Prag".**

Meerschweinchen I (Kontrolle). 1 ccm normales Kaninchenserum intraperitoneal; gleich darnach $^1/_{10}$ ccm Bouillonkultur intraperitoneal.

Nach 1 Stunde: Vereinzelte Bazillen, vereinzelte Leukozyten, keine Phagozytose.

Nach 2 Stunden: Deutliche Vermehrung der Bazillen, zahlreiche Leukozyten, keine Phagozytose.

Nach 6 Stunden: Massenhaft Bazillen, spärliche Leukozyten, keine Phagozytose.

Nach 7 Stunden: Enorme Mengen von Bazillen, wenige Leukozyten, keine Phagozytose (schwer krank).

Stirbt nach 9 Stunden. In der Bauchhöhle 2 ccm dicken trüben Exsudates, darin mikroskopisch enorme Mengen von Bazillen, wenige Zellen, keine Phagozytose, keine Auflagerungen. Im Herzblute mikroskopisch Bazillen.

Meerschweinchen II. 1 ccm Immunserum intraperitoneal; gleich darauf $^1/_{10}$ ccm Bouillonkultur intraperitoneal.

Nach 1 Stunde: Vereinzelte Bazillen, spärliche Leukozyten, keine Phagozytose.

Nach 2 Stunden: Vereinzelte Bazillen, zahlreiche Leukozyten, keine Phagozytose.

Nach 6 Stunden: Spärliche Bazillen, zahlreiche Leukozyten, keine Phagozytose.

Nach 7 Stunden: Spärliche Bazillen, sehr zahlreiche Leukozyten, keine Phagozytose.

Nach 9 Stunden: Beginnende Vermehrung der Bazillen, massenhaft Leukozyten, keine Phagozytose.

Nach 24 Stunden: Massenhaft Bazillen, reiner Eiter (grofse polynukleäre Leukozyten und Makrophagen), keine Phagozytose. Tier vollkommen munter.

Nach 48 Stunden: Noch ungemein zahlreiche Bazillen, dicker Eiter, Phagozytose nicht sicher. Tier vollkommen munter.

Nach 72 Stunden: Weniger Bazillen, zum Teil schlecht gefärbt, zum Teil in feine Fädchen oder in Körnchen zerfallen, zahlreiche Leukozyten, Phagozytose nicht sicher.

Nach 96 Stunden: Vereinzelte Bazillen, zahlreiche Leukozyten, keine Phagozytose. Leht.

## Infektion mit Stamm „Teplitz".

Meerschweinchen I (Kontrolle). 1 ccm normales Kaninchenserum intraperitoneal; gleich darnach $^1/_{10}$ ccm Bouillonkultur intraperitoneal.

Nach 1 Stunde: Vereinzelte Bazillen, spärliche Leukozyten, keine Phagozytose.

Nach 2 Stunden: Vereinzelte Bazillen, zahlreiche Leukozyten, keine Phagozytose.

Nach 5 Stunden: Sehr zahlreiche Bazillen, wenige Leukozyten, keine Phagozytose.

Nach 6 Stunden: Massenhaft Bazillen, spärliche Leukozyten, keine Phagozytose (schwer krank).

Nach 7 Stunden: Enorme Mengen von Bazillen, einzelne Leukozyten, keine Phagozytose.

Nach 9 Stunden sterbend. Stirbt in der Nacht. In der Bauchhöhle dicktrübes Exsudat, darin mikroskopisch massenhaft Bazillen, wenige Zellen, keine Phagozytose. Peritoneum des Darmes intensiv gerötet (akute Peritonitis). Im Herzblut mikroskopisch zahlreiche Bazillen. In der Brusthöhle klare Flüssigkeit.

Meerschweinchen II, 255 g. 1 ccm Immunserum intraperitoneal; gleich darauf $^1/_2$ ccm Bouillonkultur intraperitoneal.

Nach 1 Stunde: Vereinzelte Bazillen, spärliche Leukozyten, keine Phagozytose.

Nach 2 Stunden: Vereinzelte Bazillen, zahlreiche Leukozyten, keine Phagozytose.
Nach 5 Stunden: Einzelne Bazillen, sehr zahlreiche Leukozyten, keine Phagozytose.
Nach 6 Stunden: Einzelne Bazillen, massenhaft Leukozyten, keine Phagozytose.
Nach 7 Stunden: Hie und da ein Bazillus, reiner Eiter, keine Phagozytose.
Nach 24 Stunden: Massenhaft Bazillen, reiner, dicker Eiter, keine Phagozytose, Tier vollkommen munter.
Nach 48 Stunden: Kapillarentnahme wahrscheinlich wegen des dicken Eiters unmöglich. Lebt.

**Infektion mit Stamm „München".**

Meerschweinchen I (Kontrolle). 1 ccm normales Kaninchenserum intraperitoneal; gleich darnach $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur intraperitoneal.
Nach 1 Stunde: Vereinzelte Bazillen, spärliche Leukozyten, keine Phagozytose.
Nach 2 Stunden: Spärliche Bazillen, zahlreiche Leukozyten, keine Phagozytose.
Nach 5 Stunden: Sehr zahlreiche Bazillen, spärliche Leukozyten, keine Phagozytose (schwer krank).
Nach 6 Stunden: Massenhaft Bazillen, wenige Leukozyten, keine Phagozytose.
Nach 7 Stunden: Massenhaft Bazillen, spärliche Leukozyten, keine Phagozytose.
Nach 9 Stunden eterbend. Stirbt in der Nacht. In der Bauchhöhle leicht blutiges, dicktrübes Exsudat, darin mikroskopisch enorme Mengen von Bazillen, wenige Zellen, keine Phagozytose. Ungemein starke Rötung des Darmperitoneums und Blutung ins Netz (akute Peritonitis). Im Herzblut mikroskopisch zahlreiche Bazillen.

Meerschweinchen II. 290 g. 1 ccm Immunserum intraperitoneal; gleich darauf $^1/_{10}$ ccm Bouillonkultur intraperitoneal.
Nach 1 Stunde: Vereinzelte Bazillen, spärliche Leukozyten, keine Phagozytose.
Nach 2 Stunden: Vereinzelte Bazillen, zahlreiche Leukozyten, keine Phagozytose.
Nach 5 Stunden: Einzelne Bazillen, sehr zahlreiche Leukozyten, keine Phagozytose.
Nach 6 Stunden: Hie und da ein Bazillus, massenhaft Leukozyten, keine Phagozytose.
Nach 7 Stunden: Einzelne Bazillen, reiner Eiter, keine Phagozytose.
Nach 24 Stunden: Spärliche Bazillen, dicker Eiter, keine Phagozytose.
Nach 48 Stunden: Spärliche Bazillen, dicker Eiter, keine Phagozytose. Lebt.

In dem folgenden Versuche wurde das Immuntier mit einer gröfseren Menge Bazillen infiziert; Immunserum von Kaninchen IV. Infektion mit Stamm »München«.

Meerschweinchen I (Kontrolle). 1 ccm normales Kaninchenserum intraperitoneal; gleich darauf $^1/_{10}$ ccm Bouillonkultur intraperitoneal.

Nach 1 Stunde: Spärliche Bazillen, zahlreiche Leukozyten, keine Phagozytose.

Nach 3 Stunden: Ziemlich zahlreiche Bazillen, zahlreiche Leukozyten, keine Phagozytose.

Nach 6 Stunden: Massenhaft Bazillen. Spärliche Leukozyten, keine Phagozytose. (Tier schwer krank.)

Nach 8 Stunden: Massenhaft Bazillen. Vereinzelte Leukozyten, keine Phagozytose.

Stirbt nach $9^1/_2$ Stunden. In der Bauchhöhle dicktrübes Exsudat, darin spärliche Zellen, keine Phagozytose, massenhaft Bazillen. Im Herzblut mikroskopisch Bazillen.

Meerschweinchen II. 1 ccm Immunserum intraperitoneal; gleich darauf $^1/_2$ ccm Bouillonkultur intraperitoneal.

Nach 1 Stunde: Ziemlich zahlreiche Bazillen, spärliche Leukozyten, keine Phagozytose.

Nach 3 Stunden: Ziemlich zahlreiche Bazillen, sehr zahlreiche Leukozyten, keine Phagozytose.

Nach 6 Stunden: Spärliche Bazillen, sehr zahlreiche Leukozyten, keine Phagozytose.

Nach 8 Stunden: Spärliche Bazillen, sehr zahlreiche Leukozyten, keine Phagozytose.

Nach 10 Stunden: Spärliche Bazillen, Eiter, keine Phagozytose.

Nach 24 Stunden: Vereinzelte Bazillen, dicker Eiter, keine Phagozytose. Lebt.

Die Vorgänge in der Bauchhöhle spielen sich folgendermafsen ab. In den ersten zwei Stunden treten zwischen Kontroll- und Immuntier keine Differenzen auf. Das der Bauchhöhle entnommene Exsudat weist in jedem Gesichtsfeld vereinzelte Keime — die eingespritzten Bazillen — auf und ziemlich zahlreiche Leukozyten. Letztere sind durch den Reiz, welchen die injizierte Flüssigkeit gesetzt hat, herbeigelockt, da nach dieser Zeit eine wesentliche Vermehrung der Bazillen und eine Beeinflussung der Leukozyten (beim Kontrolltier) durch dieselben noch nicht stattgefunden hat. Anders gestaltet sich das Bild nach 5 Stunden. Beim Kontrolltiere merkt man nach dieser Zeit schon eine starke Vermehrung der Bazillen, während die Leukozytenzahl abnimmt, beim Immuntiere hingegen ist die Zahl der Bazillen nicht vermehrt, wohingegen massenhaft Leukozyten auftreten. Phagozytose konnte weder beim Kontrolltier noch

beim Immuntier mit Sicherheit beobachtet werden. In den folgenden Stunden spielen sich beim Immuntier und Kontrolltier die entgegengesetzten Vorgänge ab. Während bei ersterem die Zahl der Bazilleu sich nicbt vermehrt und die Leukozytenzahl ungemein reichlich bis zur dicken Eiterbildung zuuimmt, verringern sich bei letzterem die Leukozyten, die Zahl der Bazillen hingegen wächst rapide bis zum Tode des Tieres, welcher stets unter starker Abnahme der Temperatur erfolgt.

Auffallend und überraschend ist der Befund bei den Immuntieren nach 24 Stunden. Man findet nach dieser Zeit eine starke, fast erschreckende Vermehrung der Bazillen, so dafs man nach dem Bauchhöhlenbefund um das Leben des Tieres fürchtet. In unserem Versuche tritt dies besonders beim Stamm »Prag« und »Teplitz« hervor. Die Vermehruug der Bazillen im Immuntiere ist eine so intensive wie beim Kontrolltiere etwa zwei Stunden vor dem Tode, dabei befinden sich die Tiere vollkommen munter und zeigeu nicht die geringsten Krankheitserscheinungen. Neben den massenhaften Bazillen finden sich aber grofse Mengen von Leukozyten, — dicker Eiter, — welche wohl zum gröfsten Teile die Unschädlichkeit der Bakterien bewirken. Auffallenderweise konnte Phagozytose nie mit Sicherheit beobachtet werdeu. Wir haben also bei der intraperitonealen Infektion passiv immuner Meerschweinchen in der Bauchhöhle dieselben Vorgäuge wie in der Subkutis subkutan infizierter passiv immuner Kaninchen, wo sich ebenfalls die Bakterien im Infiltrate vermehren und durch Anlockung der Leukozyten die Infiltrate bilden. Allerdings können wir uns vorstellen, dafs die in der Subkutis angesammelteu Leukozyten eher einen für die Bakterien schwer zu durchdringenden Wall abgeben, so dafs eine Durchwachsung des Körpers unterbleibt, als in der freien Bauchhöhle. Es scheint aber auch hier den Leukozyten, wenn auch nicht als Frefszellen, eine grofse Bedeutung zuzukommen. Es konnten nämlich Bail bei Cholera und Kikuchi bei Dyseutrie den Nachweis erbringen, dafs das Aggressin unter Leukozyteneinflufs geschädigt wird. Ähnliche Verhältnisse könnten auch hier vorliegen, indem die in grofser Menge angesammelten Leukozyten

die Bakterien ihrer Aggressivität beraubten, demnach die intensive Durchwucherung des Körpers ausbleibt, und selbst eine Vermehrung in oer Bauchhöhle von so gefährlicben Parasiten, denen ihre Aggressivität genommen, unschädlich ist. Wie weit Entgiftungsverhältnisse dabei in Betracht kommeu, soll, da wir von dem Toxin und Endotoxin gerade der echten Parasiten so wenig Sicheres wissen, unentschieden bleibeu. Die hinterherige Vermehrung tritt jedoch, wie scbon Stamm »München« zeigt, nicht konstant auf, der Grund hierfür wurde nicbt ermittelt. Eine analoge Beobacbtung bei Milzbrand machte Sobernbeim, welcher das Blut von immunen Tieren voll von Milzbrandbazillen fand. Dafs auch dieser Befund nicht konstant ist, zeigen Versuche von Bail, der zwar ebenfalls noch nach Tagen bei milzbrandimmunen Tieren die Bazillen lebend im Blut und in den Organen nachweisen konnte, aber nur in geringer Zahl.

Die nun folgenden Versuche zeigen, dafs die binterberige Vermehrung der Bakterieu in der Baucbböhle auch bei aktiver Immunität und auch bei einem anderen Vertreter aus der Gruppe der Hüppeschen bämorrhagischen Septikämie, dem Schweineseuchebakterium, auftritt. Zur Immunisierung dieser Meerschweinchen wurde ebenfalls das sterilisierte, von den Bakterien befreite Brusthöblenexsudat intrapleural mit Schweineseuchebakterien infizierter Kaninchen verwendet. Zur Infektion wurde ein frisch aus der Lunge eines Scbweines gezüchteter Stamm verwendet.

**Meerschweinchen I. 240 g.**

$^1/_2$ ccm sterilisiertes Schweineseucheexsudat subkutan.
Nach 6 Tagen 1 ccm sterilisiertes Schweineseucheexsudat subkutan.
Nach 5 Tagen: $1^1/_2$ ccm sterilisiertes Schweineseucheexsudat subkutan.
Nach 14 Tagen mit $^1/_2$ ccm Boulllonkultur von Schweineseuche intraperitoneal infiziert.
Nach 1 Stunde: Spärliche Bazillen, wenige Leukozyten.
Nach 2 Stunden: Spärliche Bazillen, wenige Leukozyten.
Nach 5 Stunden: Deutliche, jedoch nicht starke Vermehrung der Bazillen, sehr zahlreiche Leukozyten.
Nach 24 Stnnden: Sehr starke Vermehrung der Bazillen, sehr zahlreiche Leukozyten, Phagozytose nicht sicher. (Tier mnnter.)
Nach 48 Stunden: Weniger Bazillen, zahlreiche Leukozyten. Lebt und wurde weiter immunisiert.

**Meerschweinchen II. 260 g.** (Kontrolle.)

$^1/_2$ ccm Bouillonkultur von Schweineseuche intraperitoneal.
Nach 1 Stunde: Spärliche Bazillen, wenige Leukozyten.
Nach 2 Stunden: Wenige Bazillen, wenige Leukozyten.
Nach 5 Stunden: Ungemein starke Vermehrung der Bazillen, wenige Leukozyten.
Stirbt nach 20 Stunden. In der Bauchhöhle 1 ccm Exsudat, darin mikroskopisch enorme Mengen von Bazillen, keine Zellen. Keine Auflagerungen. In der Brusthöhle 1 ccm bazillenreiches Exsudat. Im Herzblut mikroskopisch massenhaft Bazillen.

**Meerschweinchen III. 250 g.**

$^1/_2$ ccm sterilisiertes Schweineseucheexsudat subkutan.
Nach 6 Tagen: 1 ccm sterilisiertes Schweineseucheexsudat subkutan.
Nach 5 Tagen $1^1/_2$ ccm sterilisiertes Schweineseucheexsudat subkutan.
Nach 15 Tagen: $^1/_{10}$ ccm Exsudat des Kontrolltieres des vorigen Versuches intraperitoneal.
Nach 1 Stunde: Spärliche Bazillen, vereinzelte Zellen.
Nach 2 Stunden: Spärliche Bazillen, vereinzelte Zellen.
Nach 5 Stunden: Spärliche Bazillen, zahlreiche Leukozyten, Phagozytose nicht sicher.
Nach 24 Stunden: Zahlreiche Bazillen, zahlreiche Leukozyten (Tier munter).
Nach 48 Stunden: Abnahme der Bazillen, jedoch immer noch sehr zahlreich, zahlreiche Leukozyten. Wurde weiterimmunisiert.

**Meerschweinchen IV.** (Kontrolle.) **280 g.**

Intraperitoneal infiziert mit $^1/_{10}$ ccm Exsudat wie Meerschweinchen III.
Nach 1 Stunde: Spärliche Bazillen, vereinzelte Zellen.
Nach 2 Stunden: Spärliche Bazillen, vereinzelte Zellen.
Nach 5 Stunden: Starke Vermehrung der Bazillen, wenige Leukozyten.
Stirbt nach weniger als 18 Stunden. Subkutanes Ödem, darin mikroskopisch 0. In der Bauchhöhle trübes Exsudat, mikroskopisch wimmelnd von Bazillen, sehr spärliche Zellen. Keine Auflagerungen auf Leber und Netz. Darmperitoneum intensiv gerötet. In der Brusthöhle trübes Exsudat, darin mikroskopisch zahlreiche Bazillen. Im Herzblut mikroskopisch massenhaft Bazillen.

Jedenfalls zeigen diese Versuche infolge der Erscheinung der nachträglichen Vermehrung in der Bauchhöhle, dafs weder die Wirkung des Hühnercholera-Immunserums, noch das Wesen der aktiven Aggressinimmunität gegen Schweineseuchebakterien auf bakteriolytische Eigenschaften zurückzuführen ist. Bakterizide Reagenzglasversuche anzustellen, erschien angesichts der Tierversuche überflüssig. Was die agglutinierende Wirkung des

Immunserums betrifft, so zeigt dieselbe, wie aus der folgenden Tabelle ersichtlich ist, einen fast negativen Befund. Wir wissen ja, dafs die Bedeutung der Agglutination für die Immunität eine sehr problematische ist.

**Immunserum von Kaninchen IV.**

| Serum-verdünnung | Nach 1 Stunde bei 50° | Nach 24 Stunden bei Zimmertemperatur |
|---|---|---|
| 1 · 10 | negativ | etwas Bodensatz, überstehende Flüssigkeit trüb |
| 1 : 50 | negativ | negativ |
| 1 : 100 | negativ | negativ |
| 1 : 1000 | negativ | negativ |

Meerschweinchen 300 g. Intraperitoneal infiziert mit ½ ccm Bauchhöhlenexsudates eines passiv immunisierten und infizierten Meerschweinchens [1]).

Nach 1 Stunde: Zahlreiche Zellen, keine Bazillen.

Nach 2 Stunden: Zahlreiche Zellen, keine Bazillen.

Nach 8 Stunden: Massenhaft Leukozyten, keine Bazillen.

Nach 24 Stunden: Zahlreiche Bazillen, spärliche Leukozyten, keine Phagozytose. (Tier krank.)

Nach 25 Stunden: Massenhaft Bazillen, spärliche Leukozyten, keine Phagozytose.

Nach 27 Stunden: Enorme Mengen von Bazillen, wenige Leukozyten, keine Phagozytose.

Stirbt nach 30 Stunden. In der Bauchhöhle trübes Exsudat, darin mikroskopisch enorme Mengen von Bazillen, wenige Zellen, keine Phagozytose. Nirgends Auflagerungen. In der Brusthöhle klare Flüssigkeit. Im Herzblut mikroskopisch Bazillen.

Der vorangehende Versuch wurde ausgeführt, um zu erweisen, dafs die Bakterien im passiv immunen Meerschweinchen ihre Virulenz nicht verlieren. Das Bauchhöhlenexsudat wurde einem Meerschweinchen 24 Stunden nach der Infektion entnommen, welches nicht die nachträgliche Vermehrung der Bazillen in der Bauchhöhle gezeigt hatte und demgemäfs nur sehr wenige Keime, in dem Exsudate aber ungemein zahlreiche Leukozyten aufwies. Wie der vorhergehende Versuch zeigt, waren

1) Meerschweinchen II, S. 174.

durch 8 Stunden keine Bazillen in der Bauchhöhle aufgetreten. Der Grund hierfür kann entweder der sein, dafs die Zahl der eingespritzten Keime eine sehr geringe war oder der, dafs die massenhaft miteingespritzten lebenden Leukozyten, die aus einem immunen Tiere stammten, die Vermehrung der Bakterien für einige Stunden aufgehalten haben. Nach 24 Stunden ändert sich jedoch der Befund, indem sich die Bakterien in der Bauchhöhle vermehren und die Vermehrung derselben bis zum Tode des Tieres anhält. Die hinterherige Vermehrung, die immunen Tiere keinen Schaden bringt, bedeutet für ein normales Tier den Tod. Diesem Versuche entnimmt man also, dafs die Bakterien an sich im immunen Tier keine Veränderung erleiden, denn sie sind in geringster Menge befähigt, ein normales Tier zu töten. Nur der Zustand des aggressiuimmunen Tieres mufs ein anderer geworden sein, um sich der lebeudeu Bakterien zu erwehren. Dieser Umstand, der für den Mechanismus der Aggressinimmunität von grofser Bedeutung zu sein scheint, und weiterer Untersuchungen bedarf, zeigt auch, dafs sich die Aggressinimmunität prinzipiell von der bakteriziden oder antitoxischen Immunität unterscheidet. Bei diesen beiden Arten der Immunität bedeutet eine Nichtzerstörung der Bakterien oder eine Nichtparalysierung des Giftes ein Verhängnis für das Tier.

Konnten wir durch eine frühere Untersuchung mit dem Exsudate infizierter Tiere, aus dem die lebenden Bakterien vollständig und zum gröfsten Teile auch die toten entfernt sind, bei Hühnercholera aktive Immunität erzielen, so zeigen diese Untersuchungen, dafs es gelang, durch Steigerung derselben im Blute dieser Tiere spezifisch wirkende Schutzstoffe aufzufinden. Drei von den hier verwendeten Kaninchen, von denen das Immunserum stammt, hatten, um ihre aktive Immunität zu prüfen, eine Infektion durchgemacht, hatten also einmal lebende Bazillen bekommen. Des theoretischen Interesses halber wurde Kaninchen VII nie infiziert, war also nur mit sterilisiertem Exsudat behandelt und nie mit lebenden Bazillen, und trotzdem wirkt sein Serum, wie ja zu erwarten war, in demselben Mafse schützend. Dasselbe gilt auch, wie noch nicht abgeschlossene

Untersuchungen gezeigt haben, für Schweineseuche. Die Mitwirkung lebender Bazillen erscheint also für diese Immunität nicht unbedingt nötig. Wir kommen noch auf diesen Punkt zurück. In diesem Jahre erschien von Wassermann und Citron eine Arbeit, in welcher sich die Verfasser mit der lokalen Immunität der Gewebe befassen. Dabei erörtern sie auch die Frage, dafs es bei vielen Mikroorganismen nicht gelingt, durch Behandlung mit toten Bakterien, welche zur Erzeugung der bakteriziden Immunität hinreichen, Immunität zu erzielen, und dies mifslingt, wie die Autoren meinen, gerade bei jenen Mikroorganismen, welche die Tiere spontan infizieren, welche für die betreffende Tierspezies homolog sind; hierzu ist unbedingt die Einführung lebender Mikroorganismen nötig, selbst auf die schonendste Weise abgetötete sind vollkommen wirkungslos.

Tatsächlich sind die Methoden, welche zur Erzeugung der bakteriziden Immunität führen, allen jenen Bakterien gegenüber machtlos, welche nicht befähigt sind, im Tierkörper bakterizide Stoffe zu bilden. Und gerade auf Grund der Erkenntnis von der unzureichenden Wirkung der bakteriziden Immunität ist die Aggressintheorie entstanden, welche die Schwierigkeiten, welche für die bakterizide Immunität unüberwindliche waren, überwunden hat. Voges war der erste, der bei der hämorrhagischen Septikämie die vollständige Nutzlosigkeit der Behandlung mit toten Bakterien einsehen mufste, obgleich gerade hier von Pasteur schon der richtige Weg gezeigt war. Sobernheim spricht sich bei Milzbrand dahin aus, dafs es bisher nicht gelungen ist, durch tote Milzbrandbazillen oder durch chemische Produkte derselben Immunität zu erzeugen, und Wassermann und Citron präzisieren diesen Standpunkt dahin, dafs sie meinen, dafs gerade jenen Mikroorganismen gegenüber, welche die Tiere spontan infizieren, die Methoden der bakteriziden Immunität machtlos sind. Unserer Ansicht sind das alle echte Parasiten, wie hämorrhagische Septikämie und Milzbrand. Wir stimmen mit Wassermann und Citron vollkommen darin überein, dafs, wenn man Immunität mit Bakterien erzeugen will, man sie lebend einführen mufs; denn diese vermehren sich im Tier-

körper, erzeugen Aggressin, welches die Immunität bewirkt. Das sind tote Bakterien nie imstande. Der Wert der Aggressintheorie liegt darin, dafs sie erkannt hat, dafs Krankheit und Tod sowohl, als auch Immunität, an gewisse Eigenschaften der Krankheitserreger, an die aggressiven, unbedingt gebunden sind, und dafs es genügt, diese in das zu immunisierende Tier hineinzubringen. Und der grofse Vorteil, den die Aggressintheorie den praktischen Immunisierungsmethoden gebracht hat, liegt darin, dafs sie das Aggressin von den lebenden Bakterien trennt, so dafs die Immunisierung mit einer sterilen, gröfstenteils, wie bei Hühnercholera, Schweineseuche und Milzbrand vollkommen ungiftigen Flüssigkeit vorgenommen wird. Die Gefahr, die die Einführung lebender Bakterien mit sich bringt, wie Impfverluste oder Infektion gesunder Tiere, ist dabei vollständig ausgeschlossen. Die dadurch erzeugte Immunität ist eine hohe und dauernde und trotzdem lassen die Gewebssäfte dieser Tiere, — es mufs hier auf alle nach der Richtung hin publizierten Arbeiten verwiesen werden, — meistenteils keine bakteriziden Eigenschaften erkennen. Und gerade diejenigen Mikroorganismen, welche die Tiere spontan infizieren, wie Hühnercholera und Milzbrand, denen gegenüber die Methoden der bakteriziden Immunität versagen, zeigen infolge ihrer starken Aggressivität die besten Resultate. Wir führen zwar nicht lebende Bakterien ein, sondern das Produkt, welches das Leben der Bakterien im Körper anfacht, das Aggressin, und den allgemeinen Gesetzen folgend bildet der Organismus einen Gegenkörper, welcher die Aggressivität der Bakterien, ihre unbegrenzte Vermehrungsfähigkeit zunichte macht, und darin besteht das Wesen dieser Immunität.

Für eine hohe und dauernde aktive Immunität reicht die Behaudlung mit sterilem Exsudat vollkommen aus, auch erreicht das Blutserum dieser Tiere einen starken Schutz, wenn die Immunität nur mit sterilem Exsudat hochgetrieben ist. Da aber durch die Sterilisierung des Exsudates die Aggressivität doch abgeschwächt wird, und da, wie wir aus bereits erwähnten Versuchen wissen, eine Abschwächung der Aggressivität auch eine Abschwächung der Immunität bedeutet, so wird man, um ein

hochwertiges Serum zu erlangen, schliefslich den Tieren unverändertes Exsudat einführen, selbstverständlich erst dann, wenn die aktive Immunität eine entsprechend hohe ist, was bei Milzbrand von Bail schon durchgeführt wurde. Bei Hühnercholera wurde des theoretischen Interesses halber davon abgesehen, und werden diese Umstände erst bei Schweineseuche, worüber in nächster Zeit berichtet werden wird, in Betracht gezogen.

---

Nach Abschlufs dieser Arbeit erschien von Wassermann und Citron eine Publikation in der Deutschen medizinischen Wochenschrift, in welcher sich die beiden Autoren gegen die Bedeutung resp. Deutung der von Bail entdeckten Aggressine wenden. Von der den Aggressinen supponierten Wirkung greifen die Autoren nur eine heraus, nämlich die Infektionsbeförderung derselben. Wenn es gelingt, meinen die Verfasser, im Vereine mit den Bakterien aufserhalb des lebenden Körpers Substanzen zu erzeugen, welche die Infektion begünstigen, so hätten die Aggressine ihre Bedeutung verloren. Derartige Substanzen erzeugen sie aufserhalb des Tierkörpers durch Behandlung von Flüssigkeiten mit Bakterien. Auf dieselbe Art und Weise konnten auch Pfeiffer und Friedberger im normalen Serum Stoffe auffinden, welche die Bakteriolyse in der Meerschweinchenbauchhöhle aufheben. Die völlige Bedeutungslosigkeit letzterer für die Aggressine konnte aber Bail in einer im Archiv für Hygiene erschienenen Arbeit nachweisen. Abgesehen davon, dafs nirgends behauptet wurde, dafs die Aggressine ausschliefslich im Tierkörper gebildet werden, dafs sich im Gegenteil Bail bemühte, sie auch aufserhalb des Tierkörpers aufzufinden, um Sicherheit zu erlangen, dafs es Sekretionsprodukte der Bakterien sind, geht aus den Versuchen von Wassermann und Citron nicht mit Bestimmtheit hervor, ob die Tiere der Infektion, der fortschreitenden Vermehrung der Bakterien erlegen sind. Es ist aber immerhin möglich, dafs verschiedene Substanzen eine oder die andere Wirkungsweise gemeinsam haben können. Denn andere Eigenschaften der Aggressine als die Infektionsbegünstigung, wie Labilität, Leukozytenbeeinflussung, die sich, wie aus noch nicht veröffentlichten Versuchen mit Subtilis, sogar in der Eprouvette nachweisen lassen etc. haben die Verfasser nicht in den Rahmen ihrer Untersuchungen gezogen. Übrigens sind zurzeit ganz analoge Versuche im hiesigen Institute im Gange, wie die Untersuchungen über aggressive Eigenschaften junger Bouillonkulturen von Bail (siehe Salus, Wiener klin. Wochenschrift, 1905, Nr. 25), und nur der Beginn der Sommerferien setzte der Vollendung derselben ein Ziel. Was jedoch die Aggressinimmunität betrifft, von der Wassermann und Citron behaupten, dafs dieselbe auf einfachere und viel billigere Weise durch die von ihnen hergestellten, angeblich den Aggressinen analogen Präparaten erzielt werden kann, so mufs daran doch entschieden gezweifelt werden. Abgesehen davon, dafs die Aggressinimmunität

nicht auf bakteriziden Eigenschaften der Gewebssäfte beruht, worauf immer hingewiesen wurde, was aber der Fall sein müfste, wenn Bakterienleibessubstanzen die Ursache davon wären, so wurde mit Aggressinen gerade bei den Infektionserregern Immunität erzielt, wo die Methoden mit toten Bakterien oder Bakterienleibesbestandteilen nnzureicbend sind. So bei Milzbrand, Schweineseuche und Hübnercbolera, wo gerade, wie in dieser Arbeit schon erwähnt, Wassermann und Citron angeben, dafs mit toten Bakterien demnacb wohl ebensowenig mit den von ihnen bergestellten »künstlicben Aggressinen« nichts auszuricbten ist. Vollkommen sicher gelingt dies jedoch, wie ancb diese Arbeit beweist, mit Aggressinen, die aus dem lebenden Organismus gewonnen sind.

Herr Professor Bail, der znrzeit abwesend ist, wird gelegentlicb selbst auf die Fragen, die Wassermann und Citron berübren, zurückkommen.

# Literatur.

Bail, Untersuchungen über natürliche und künstliche Milzbrandimmunität. Zentralblatt f. Bakt., Bd. 36, Nr. 2 u. 3.

Derselbe, Untersuchungen über Typhus- und Choleraimmunität. Archiv f. Hygiene, Bd. 52.

Kikuchi, Untersuchungen über das Dysenterieaggressin. Berliner klin. Wochenschr., 1905, Nr. 15.

Kitt, Immunität bei Geflügelcholera. Wassermann und Kolle, Handbuch d. pathogenen Mikroorganismen.

Soberuheim, Immunität bei Milzbrand. Wassermann und Kolle. Handbuch d. pathogenen Mikroorganismen.

Voges, Untersuchungen über die Erreger der hämorrhagischen Septikämie. Zeitschrift f. Hygiene u. Infektionskrankh., Bd. 23.

Wassermann und Citron, Die lokale Immunität der Gewebe und ihre praktische Wichtigkeit. Deutsche med. Wochenschr., 1905, Nr. 15.

Weil, Untersuchungen über Infektion und Immunität bei Hühnercholera. Archiv f. Hygiene, Bd. 52.

Derselbe, Die passive Aggressinimmunität bei Hühnercholera. Wiener klin. Wochenschr., 1905, Nr. 16.

# Über Hämolyse im Reagensglas und im Tierkörper.

Von

Dr. **Oskar R. von Wunschheim,**

I. Assistenten am Institute.

(Aus dem Hygienischen Institute der k. k. Universität Innsbruck. Vorstand Prof. A. Lode.)

## Einleitung.

Bis vor wenigen Jahren war man gewohnt, den Begriff der Bakterientoxine einfach so zu fassen, dafs wir unter Toxin ganz allgemein eine giftige Substanz verstanden, welche durch ihre deletäre Wirkung auf den tierischen Organismus ausgezeichnet war. Den eingehenden Arbeiten derjenigen Forscher, welche sich zur Aufgabe gemacht hatten, die Wirkungen der Bakterientoxine auf einzelne Elemente des tierischen Körpers, zunächst das Blut, zu studieren, haben wir die Erkenntnis zu danken, dafs in den Toxinen mancher Bakterien Giftanteile sich nachweisen lassen, welche eine spezielle Wirkung auf gewisse geformte Teile des Blutes ausüben, so sind die Bakteriohämolysine jene Toxinkomponenten, welche die Eigenschaft besitzen, Blutzellen in vitro zu vernichten.

Die Mehrzahl der heute vorliegenden Arbeiten befafst sich mit den sowohl von pathogenen als auch von nicht pathogenen Mikroorganismen produzierten Hämolysinen, welche Erythrozyten zu lösen pflegen. Aufser diesen kennen wir auch ein Gift, das imstande ist, Leukozyten zu vernichten, das »Leukozidin«.

Die Ansicht, dafs Bakterien hämolytische Eigenschaften haben könnten, hat kein Geringerer als Robert Koch (1) im Jahre 1884 wohl als erster ausgesprochen, indem er sagt, »dafs die Kommabazillen auf die Formelemente des Blutes höchstwahrscheinlich auch auf andere Zellen einen zerstörenden Einflufs ausüben können«.

Zwei Jahre später hat Bitter (2) die Blutauflösung durch Choleravibrionen studiert, und van de Velde (3) hat 1894 im Exsudate von Kaninchen, die er durch intrapleurale Injektion von Staph. pyog. aureus getötet hatte, ein Gift gefunden und beschrieben, welches lebende Leukozyten absterben machte, das oben erwähnte Leukozidin. Bail (4) hat später darüber weitere Mitteilungen gemacht.

Ehrlich (5) fand in Kulturen des Tetanusbazillus ein Gift, welches vom eigentlichen Tetanusgifte, dem krampferregenden Tetanospasmin, funktionell verschieden sich durch seine hämolytischen Eigenschaften auszeichnete, das Tetanolysin. Diesen Körper hat Madsen (6) genauer studiert, und mit seinen Untersuchungen beginnt die Reihe der planmäfsigen Arbeiten über die Wirkung der Bakteriohämolysine.

Fast alle diese Untersuchungen, die wir bei den einschlägigen Kapiteln unserer Tierversuche kurz besprechen wollen, bezogen sich auf Reagensglasversuche. Wenige nur, so Kraus und Ludwig (7) sowie Schur (8) haben bisher auch den Tierversuch etwas berücksichtigt.

Kraus und Ludwig haben Kaninchen Bouillonkulturen (auch Filtrate) von Staph. aureus und eines nicht pathogenen Vibrio, der im Reagensglas hämolytisches Vermögen zeigte, subkutan injiziert und durch Zählung der Blutkörperchen deren Abnahme konstatiert. Kontrollversuche, welche mit Stämmen von Typhusbakterien, Bacterum coli, und Choleravibrionen angestellt waren, die von Haus aus kein oder nur geringes hämolytisches Vermögen hatten, zeigten keinen nennenswerten Einflufs der genannten Bakterien auf die Zahl der Erythrozyten des Kaninchens.

Schur konnte bei mit Staphylolysin vergifteten Kaninchen keine Hämoglobinämie beobachten, aber nachweisen, dafs das in isotonischer Kochsalzlösung suspendierte Blut dieser Kaninchen gegenüber dem Kontrollblute normaler Tiere deutliche Lösung zeigte.

Wir wollen in unseren Untersuchungen der Frage nähertreten, wie denn bei Infektionen mit pathogenen Mikroorganismen im Verlaufe des Prozesses die Erythrozyten bezüglich der Hämolyse sich verhalten und nachsehen, ob ein Parallelismus zwischen Hämolyse in vitro und im Tierkörper bestehe.

## Methodik.

Um für unsere Fragestellung verwertbare Resultate zu erhalten, mufsten wir uns zunächst eine geeignete Untersuchungsmethode zurechtlegen.

Für die Feststellung, ob bei Infektionskrankheiten Erythrozyten zugrunde gehen, eine klinisch für den Menschen ja längst gezeigte Tatsache, ist die Methode der Blutkörperchenzählung bekanntlich sehr gut brauchbar. Für uns schien dieses Verfahren nicht empfehlenswert. Aus zwei Gründen: einmal weil es ja durchaus nicht bewiesen war, dafs die Abnahme der Erythrozyten auf Lysinproduktion von seiten der infizierenden Bakterien zurückzuführen sei, und zweitens weil ja in sehr kurzen Intervallen Blutuntersuchungen vorzunehmen waren, bei denen die Zählung mit der Entnahme nicht gut gleichen Schritt hätte halten können.

Noch auf andere Punkte war Rücksicht zu nehmen. So mufsten wir, da wir ja eine gröfsere Zahl von Blutentnahmen in Betracht zogen, darauf bedacht sein, möglichst kleine Mengen von Blut bei jeder Entnahme dem Versuchstiere zu entziehen, da wir ja durch öfteres Abzapfen gröfserer Mengen unvermeidlich einen Zustand von Anämie hervorgerufen und so möglicherweise den normalen Verlauf der Infektion beeinflufst hätten. Dann war noch zu bedenken, dafs, wie eingangs erwähnt, Schur darauf aufmerksam gemacht hat, dafs das Blut staphylolysinvergifteter Kaninchen in isotonischer Kochsalzlösung gegenüber dem Blute

normaler Tiere starke Tendenz zur Lösung gezeigt hatte. Es war ja von vornherein durchaus nicht auszuschliefsen, dafs nicht vielleicht beim lebenden infizierten Tiere während des Verlaufes des Krankheitsprozesses von seiten der beteiligten Mikroorganismen Hämolysin produziert und von den Erythrozyten gebunden würde, doch war ja damit keineswegs gesagt, dafs auch die Lösung der Blutzellen sofort erfolgen müsse. Wir wissen ja, dafs im Reagensglasversuch nach erfolgter Bindung des Lysins durch die roten Blutkörperchen erst eine gewisse Latenzzeit verstreicht, ehe die Blutkörperchen ihr Hämoglobin abzugeben pflegen.

Ähnliche Verhältnisse waren ja auch für das lebende Tier als möglich anzunehmen; durch Bakteriolysin geschädigte Erythrozyten konnten erst nach einiger Zeit in Lösung gehen und wir mufsten also bestrebt sein, eine Versuchsanordnung zu treffen, welche es uns ermöglicht, gleichzeitig entnommene Blutproben zu verschiedenen Zeiten auf den Austritt von Hämoglobin ins Serum zu untersuchen, um, im Sinne von Schur gesprochen, eine Nachlösung, die Nachhämolyse, konstatieren zu können.

Unter Erfüllung aller dieser Postulate glauben wir eine möglichst bequeme und auch leicht den Regeln aseptischen Arbeitens entsprechende Methodik eingeschlagen zu haben. Wir verwendeten zu den periodischen Blutentnahmen möglichst dünne, wenig Blut fassende Glaskapillaren in U form in einer Länge von ca. 8 cm bei einer Lichte von 1 mm. Es ist wichtig, darauf zu sehen, dafs stets Kapillaren von gleichem Querschnitt angefertigt werden. Indem wir eine Anzahl dieser Kapillaren sofort nach der Entnahme (vgl. weiter unten), andere erst nach beliebigen Zeiten zentrifugierten, erreichten wir unseren Zweck in einfacher Weise, indem wir in den sofort zentrifugierten Proben eine etwa bestehende Hämoglobinämie nachweisen, in den gelagerten Röhrchen eine etwa später erfolgte Lösung, die Nachhämolyse, konstatieren konnten.

Voruntersuchungen an normalen, nicht infizierten Tieren sollten uns zunächst eventuelle Fehlerquellen aufdecken.

Da kamen zwei Momente in Betracht.

Einmal die Frage nach der normalen Färbung der Blutsera der verschiedenen Tierspezies, ferner das Verhalten der normalen Blute mit Hinsicht auf den Begriff der spontanen aseptischen Hämolyse (v. Limbeck, Nolf, Schur).

Die normalen Sera verschiedener Tiere verhalten sich auch verschieden, was ihre Farbe anbelangt, eine bekannte Tatsache, welche aber bei Heranziehung der Serumfarbe zu Schlufsfolgerungen aus Farbenänderungen neues Interesse gewinnen mufste. Unter Verwendung unseres Kapillarentyps besitzen das Kaninchen, der Hund, die Katze ein fast farbloses Serum, das Meerschweinchen zeigt meist einen Stich ins Gelbe, doch kommen hier auch farblose Sera vor. Beim Huhne fanden wir als Regel farbloses Serum, nur ein einziges Tier zeigte aus nicht festzustellender Ursache eine ölgelbe Färbung und wurde nicht zum Versuche verwendet. Bei der Taube zeigten die normalen Sera ein schwankendes Verhalten. Wir sahen solche, die fast farblos waren, neben dunkelgelben und bräunlichgelben. Altersunterschiede schienen uns da eine Rolle zu spielen.

Wenn wir nun der spontanen aseptischen Hämolyse unsere Aufmerksamkeit ein wenig zuwenden, so erfahren wir, dafs schon v. Limbeck [9] angibt, dafs normalerweise Blutkörperchen in isotonischen Kochsalzlösungen nach längerer Zeit der Auflösung anheimfallen. Nolf [10] erwähnt die Autolyse der roten Blutkörperchen.

Schur (l. c) hat sich mit dem Studium dieser Tatsache experimentell eingehender befafst und nachgewiesen, dafs nach einer mehrtägigen Frist Blutkörperchen des Kaninchens in sterilen isotonischen Kochsalzlösungen sich lösen, dafs wir also mit der Existenz einer »aseptischen spontanen Hämolyse« zu rechnen haben. Wir mufsten also auch untersuchen, inwieweit diese eben erwähnten sozusagen physiologischen Eigenschaften der roten Blutzellen unsere Versuchsanordnung tangieren könnten, und dies war ja um so wichtiger, als die eben erwähnten Forscher die Blutkörperchen in isotonischen Kochsalzlösungen beobachteten, während bei unserer Untersuchungsmethode die Erythrozyten ja in ihrem eigenen Serum aufbewahrt werden mufsten. Schur

hat des ferneren gezeigt, dafs bei der Spontanhämolyse die Temperatur von grofsem Einflusse sei. Bei uiedriger Temperatur konnte der genannte Autor nach fünf Tagen noch keine bedeutende Lösung konstatieren. Es gaben da 8 Tropfen Kaninchenblut in 0,85% Kochsalzlösung (Bestimmung mit dem Hämometer von Fleischl) nur Werte $< 10$ Fleischlgrade, nach 8 Tagen erst 110 Fleischl. Wurden die Versuche bei einer Temperatur von 32° R angestellt, so ergabeu sich, verglichen mit den bei Zimmertemperatur gehaltenen Proben, bedeutende Unterschiede hinsichtlich der Lösung zugunsten der höheren Temperatur. So erhielt Schur bei Zimmertemperatur nach 3 Tagen Werte $< 10$, bei 32° R jedoch schon nach 24 Stunden eine Fleischlzahl $< 35$, nach 2 Tagen von 70, nach 3 Tagen war schon vollständige Lösung eingetreten.

Für unsere Versuche war da zunächst zu ermitteln, innerhalb welcher Zeit normale Blutarten eventuell so viel Hämoglobin in das Serum austreten liefsen, dafs wir durch die aseptische spontane Hämolyse (als Nachhämolyse) in der Auffassung pathologischer Effekte zu Irrtümern hätten geführt werden können.

Wir liefsen also normale Blutproben in unseren Kapillaren lagern und verglichen von Zeit zu Zeit die Farbe des Serums der nun erst zentrifugierten Röhrchen mit der Serumfarbe derjenigen, welche sofort nach der Entnahme zentrifugiert worden waren. Man erhält da verschiedene Resultate, je nach der Tierspezies, aber auch individuelle Schwankungen kommen vor.

Vor allem mufs aber in technischer Hiusicht bei der Blutentnahme in äufserst vorsichtiger Weise vorgegangen werden, will man sich nicht von vornherein eines Versuchsfehlers schuldig machen. Nicht jeder Beobachter, der mit defibriniertem Blute zu arbeiten hat, ist sich vielleicht dessen genügend bewufst, und erst kürzlich hat Löwit [11] wiederum darauf aufmerksam gemacht, wie vorsichtig man beim Schütteln des geronnenen Blutes vorgehen mufs, will man das Serum möglichst frei von Blutfarbstoff erbalten. Je nachdem wir das Defibrinieren mit mehr oder weniger energischen Schüttelbewegungen vornehmen, können wir konstatieren, dafs das Serum einen mehr oder minder rötlichen

Farbenton annimmt, da durch Traumen offenbar Erythrozyten dermafsen lädiert werden, dafs sie ihren Blutfarbstoff austreten lassen. Starkes Quetschen u. dgl. kann auch bei unserer Technik der Blutentnahme einen gleich unerwünschten Einflufs ausüben.

Wir eröffneten, meist an Kaninchen experimentierend, durch einen senkrecht zur Längsachse des Kaninchenohres geführten, das Ohr durchtrennenden 1 cm langen Schnitt die am Rande verlaufenden Gefäfse. Für jede neue Blutentnahme wurde parallel der alten Entnahmestelle ein neuer Einschnitt gemacht. Beim Huhn entnahmen wir das Blut aus dem Kamme, bei der Taube aus der Flügelvene. Hund und Katze geben beim Einstich in das Ohr reichlich Blut; bei Meerschweinchen kann man durch Abtrennen kleiner Randpartien der Ohren genügende Blutmengen erhalten, doch eignen sich diese Tiere wegen ihrer Kleinheit und der geringen Angriffspunkte für die Blutentnahme nicht zu Versuchen, die sich über ein paar Tage erstrecken und zahlreiche Abnahmen erfordern.

Manchmal, allerdings seltener, konnten wir, trotzdem wir uns hinsichtlich unserer Behutsamkeit keinen Vorwurf zu machen hatten, einen stärkeren Stich ins Rötliche bei einer Serumprobe konstatieren, während andere gleichzeitig entnommene und mit derselben zentrifugierte Proben farblos waren; daran tragen vielleicht manche besonders empfindliche Erythrozyten die Schuld, wir konnten wenigstens eine andere Erklärung hierfür nicht finden. Aber diese Fälle sind doch so selten, zudem so leicht als »Versuchsfehler« zu erkennen, dafs sie nicht vermocht haben, einen Grund gegen die Verläfslichkeit unserer Methode zu bilden. Aufserdem schützt ja eine sogleich wiederholte Entnahme und der Vergleich mehrerer Röhrchen genügend vor Irrtum. Am besten verwendet man solche Tiere gar nicht, die bei der Blutkontrolle, welche unbedingt an jedem Tiere auszuführen ist, ehe man es in den Versuch einstellt, in dem Beobachter das Gefühl der Unsicherheit aufkommen lassen. Ebenso hat man Tiere, die bei der Serumkontrolle eine von der Norm abweichende Farbe des Serums zeigen, z. B. kanariengelb statt farblos beim Huhne oder Kaninchen unbedingt auszuschliefsen.

Aber nicht nur die Sera sind in ihrer normalen Farbe verschieden, auch die Erythrozyten verschiedener Tiere differieren in ihrem Verhalten bezüglich der normalen spontanen Hämolyse im eigenen Serum.

Ein gutes Beispiel ist das normale Hundeblut. Läfst man mit solchem Blute gefüllte Kapillaren bei Zimmertemperatur liegen, so kann man oft schon nach wenigen, immer aber nach Verlauf von 18—24 Stunden sehen, dafs das beim Zentrifugieren abgeschiedene Serum dunkelbraun, braunrot, ja weinrot gefärbt ist, Ausnahmen sind äufserst selten. Es ist also beim Hundeblut schon zu einer Zeit die spontane aseptische Hämolyse eingetreten, zu welcher die Sera anderer Tiere (Kaninchen, Katze, Huhn) noch ohne nennenswerte Färbung sind.

Dieses Verhalten des normalen Hundeblutes schliefst seine Verwertung, was die Nachhämolyse anbelangt, natürlich völlig aus.

Tabelle I zeigt das Verhalten normaler Sera, die zu verschiedenen Zeiten nach der Entnahme zentrifugiert wurden.

(Siehe Tabelle I auf Seite 193.)

Wir bezeichnen in unseren Tabellen unter Anwendung der Kapillarröhrchenmethode mit Hämolyse (H) die Lösung von Blutkörperchen, welche in den nicht länger als 30 Minuten nach der aus dem lebenden oder toten Tiere erfolgten Entnahme zentrifugierten Röhrchen konstatiert wurde. Als Nachhämolyse (NH) bezeichnen wir demgemäfs jede Hämolyse, welche bei erst später (über 30 Minuten) zentrifugierten Proben konstatiert wurde. Hier wäre zu bemerken, dafs — besondere Fälle natürlich ausgenommen — im allgemeinen die Blutproben zur Bestimmung der Hämolyse bis zu 30 Minuten bei Zimmertemperatur liegen gelassen wurden, um den Gerinnungsprozefs ablaufen zu lassen. Besonders bei den dem lebenden Tiere entnommenen Proben ist dies von Vorteil. Zentrifugiert man unmittelbar nach der Entnahme, so gerinnt das Fibrin ober den abgesetzten Blutkörperchen zu einer trüben glasigen Masse, welche die Beurteilung der Serumfarbe aufserordentlich erschwert. Die Zeit von 30 Minuten ist meist (Ausnahmen bei Streptokokkeninfektionen) nicht lange genug, um eine Nachhämolyse auch bei pathologischen Blut-

proben schon eintreten zu lassen, doch ist sie das Maximum an Verzögerung bei Feststellung des Farbentones der frischen Sera. Bei Sektionen wird man gut tun, Proben auch sofort zu zentrifugieren. Findet man bei am lebenden Tiere gemachten Entnahmen nach 30 Minuten Rotfärbung des Serums, so ist es ratsam, sofort eine neue Probe zu entnehmen und sogleich zu zentrifugieren.

Tabelle I.

Farbe des Serums normaler Tiere zu verschiedenen Zeiten (aseptische Spontanhämolyse).

| Die Blutprobe wurde zentrifugiert, nach der Entnahme Stunden | Sofort Kontrolle | 16 Stunden | 24 Stunden |
|---|---|---|---|
| Kaninchen I . . | farblos | Stich ins Bräunliche | wie bei 16[1]) |
| » II . . | farblos | — | fast farblos |
| » III . . | fast farblos | fast farblos | fast farblos |
| Meerschweinchen I | gelblich | — | wenig stärker gelblich als die Kontrolle |
| » II | gelblich | — | detto |
| » III | schwach gelblich | — | wie die Kontrolle |
| » IV | farblos | — | ziemlich stark bräunlich |
| Katze I, alt . . . | farblos | farblos | farblos |
| » II, alt . . . | farblos | — | fast farblos |
| Hund, 7 Wochen . | farblos | — | weinrot |
| » 3 Monate . | farblos | — | braunrot |
| » 1—2 Jahre . | farblos | — | braunrot |
| » 4 Jahre . . | farblos | — | brannrot |
| Taube I . . . . | farblos | — | — |
| » II . . . . | dunkelgelb | — | etwas dunkler als die Kontrolle |
| » III . . . . | gelbbräunlich | — | wie die Kontrolle |
| » IV . . . . | gelbbräunlich | — | wie die Kontrolle |
| Huhn I . . . . | farblos | — | fast farblos[2]) |
| » II, atypisch . | ölgelb | — | wie die Kontrolle |

Der Gerinnungsprozefs wird durch Aufenthalt im Thermostaten (37 ° C) beschleunigt, doch möchten wir dieses Verfahren nicht empfehlen.

1) Nach 40 Stunden rötlichbraun, nach 64 Stunden rotbraun.

2) Nach 40 Stunden leichter Stich ins Bräunliche, nach 72 Stunden gelbbräunlich.

Dafs natürlich darauf zu sehen ist, dafs Verunreinigungen bei der Blutentnahme vermieden werden, bedarf kaum der Erwähnung. Wir haben aber, um die Gefahr möglicher Bakterienbeimengung richtig einschätzen zu können, zu wiederholten Malen normalen Kaninchen ohne Wahrung aseptischer Mafsnahmen mit nicht sterilisierten Kapillaren Blut entnommen, auch Hautschuppen und Haare dem Blute zugesetzt, ohne einen Unterschied im Vergleiche mit aseptischen Proben wahrnehmen zu können.

Nicht unerwähnt bleibe auch, dafs die verwendete Glassorte sorgfältig auf ihre Brauchbarkeit zu prüfen ist.

Unsere Beobachtungszeit der entnommenen Proben erstreckte sich meist auf mehrere Tage, doch haben wir bei Konstatierung unserer in den Tabellen verzeichneten Resultate — wenn nicht ausdrücklich anders angegeben ist — für die Nachhämolyse nur die Zeit von 24 Stunden in Betracht gezogen. Unsere Erfahrung lehrte, dafs innerhalb dieser Zeit nennenswerte Grade von aseptischer Spontanhämolyse nicht aufzutreten pflegen, anderseits aber dieser Zeitraum genügt, um das Eintreten oder Ausbleiben der Nachhämolyse festzustellen. Normales Kaninchenserum zeigte sich nach 24 Stunden meist ebenso farblos wie die Proben, welche sofort nach der Entnahme zentrifugiert wurden; allerdings finden wir, wie schon erwähnt, mitunter Tiere, deren Sera nach 24 Stunden einen leichten Stich ins Bräunliche zeigen, eine deutlich bemerkbare Farbenschwankung, die wir wohl auf ausgetretenen Blutfarbstoff zu beziehen haben werden. Es dürften ja normalerweise gewifs innerhalb von 24 Stunden Blutkörperchen spontan zugrunde gehen, doch ist diese durch Austritt des Hämoglobins bewirkte Färbung des Serums immerhin seltener und dann auch relativ noch so mäfsig, dafs sie für unsere Beurteilung nicht von Bedeutung sein kann, zumal ja alle Beobachtungen diesmal nur mit unbewaffnetem Auge gemacht werden mufsten und vorsichtigerweise nur auffallend starke Verfärbungen des Serums verwertet wurden. Bei einiger Erfahrung und Übung wird man nicht leicht Gefahr laufen, innerhalb der Grenzen normaler Schwankungen pathologische Prozesse zu sehen.

Als Grundsatz für unsere Untersuchungen wurde aufgestellt, erst solche Farbentöne für pathologisch zu nehmen, die stärker sind als der stärkste bei normalem Blute innerhalb von 24 Stunden jemals beobachtete Farbenton. Die Feststellung von Zahlen hätte für uns da eine grofse Erleichterung bedeutet, leider steht uns zurzeit kein Apparat, welcher uns in dieser Hinsicht hätte von Nutzen sein können, zur Verfügung. Für unsere, ja nicht in quantitativer, sondern nur rein prinzipieller Richtung angestellten Untersuchungen erwies sich ein bald erreichtes Mafs von Übung im Auseinanderhalten der Farbenintensitäten der Sera als durchaus genügend, um so mehr, als das Übersehen einer ausgesprochenen Hämoglobinämie (Hämolyse) völlig unmöglich ist.

Viel eher ist schon ein Fehler nach unten hin, natürlich in Hinsicht auf die Nachhämolyse möglich, insofern als wir vielleicht schon pathologische Farbentöne des Serums noch für normalerweise mögliche ansehen konnten. Aber es kommt nicht darauf an, gewissermafsen die Schwelle zwischen normaler und pathologischer Nachhämolyse zu bestimmen, es ist in prinzipieller Hinsicht vollständig interesselos, ob diese Schwelle tiefer oder höher liegt; der Fehler aber, einen schon schwach pathologischen Effekt noch für normales Verhalten zu nehmen, wäre in unseren Versuchen höchstens zeitlich ins Gewicht gefallen, da bei Verkennung der einen Blutprobe die nächste Blutentnahme uns ja deutlich genug orientieren konnte. Ein Auffassen von normal möglichen Serumfärbungen als pathologisch aber hätte einen tadelnswerten Fehler bezüglich der Deutung unserer Versuchsresultate bedingt.

Jedes Tier, das zur Blutuntersuchung nach erfolgter Infektion dienen soll, ist zunächst daraufhin zu untersuchen, ob

1. die Farbe seines Serums der normalen Farbe seiner Tierspezies entspricht,
2. ob sein Blut bezüglich der spontanen aseptischen Hämolyse sich so verhält, dafs das Serum nach 24stündigem Lagern der Blutprobe gegenüber der Farbe, die das Serum bei sofort nach erfolgter Entnahme ausgeführter Zentrifugierung aufwies, keinen nennenswerten Farbenunterschied zeigt.

Abweichen von der normalen Farbe kann durch Krankheitsprozesse (z. B. Ikterus) bedingt sein, eine innerhalb von 24 Stunden auftretende stärkere Lösung der Blutkörperchen im Serum etwa als Eigenschaft einer Spezies (Hund) kann hinsichtlich der Nachhämolyse zu groben Irrtümern verleiten.

So haben wir einmal bei dieser Vorprüfung eines Kaninchens eine ziemlich starke Hämoglobinämie gefunden. Erhebungen ergaben, dafs das Tier, am Versuchstage von auswärts zur Stadt gebracht, einen mehrstündigen Aufenthalt in einem Korbe auf offenem Schlitten bei einer Temperatur von —19° R (in der Stadt) hinter sich gehabt hatte. Am nächsten Tage war keine Hämoglobinämie mehr zu konstatieren, das Tier verhielt sich durchaus normal. Wir setzten dann ein anderes Kaninchen der herrschenden Temperatur von einigen Minusgraden durch 3—4 Stunden aus, ohne jedoch eine Hämoglobinämie zu erzielen und verfolgten dieses aufserhalb unseres Programmes liegende Thema nicht weiter.

Zeigt sich bei der Vorprüfung das Tier brauchbar, so wird es infiziert und dann zu verschiedenen Zeiten Blut entnommen (vgl. oben). Das gewonnene Blut wird aus dem blutenden Gefäfse direkt in unsere sterilen U förmigen Kapillaren einfliefsen gelassen, dann wird nach erfolgter Gerinnung der inzwischen formierte Blutfaden ausgezogen und die Röhrchen zentrifugiert.

Wir entnehmen, wenn nicht besondere Umstände mehr erheischen, jedesmal 4 Kapillaren. Zwei werden sofort — bzw. innerhalb von 30 Minuten — zentrifugiert, zwei werden gefüllt liegen gelassen und nicht später als höchstens 24 Stunden nach der Entnahme der Zentrifugierung unterworfen. Erstere Proben zeigen nun eine etwa bestehende Hämoglobinämie (beim lebenden oder eben verendeten Tiere) an, letztere dienen uns zum Nachweise einer eventuellen Nachhämolyse.

Es ist hier wohl angezeigt, auf den Begriff der Hämoglobinämie etwas näher einzugehen.

Nach den allgemein gültigen Anschauungen der Kliniker, die ja praktisch zunächst interessant sind, verstehen wir unter Hämoglobinämie das Auftreten von gelöstem Hämoglobin im

Blute. Die Methoden, welche von klinischer Seite (Vierordt, v. Jaksch) zur Konstatierung dieser Krankheitserscheinung angegeben werden, bestehen darin, dafs man das dem Kranken mittels Schröpfkopfes entnommene Blut 24 Stunden im Eisschranke stehen läfst und das nach dieser Zeit abgesetzte Serum rubinrot verfärbt findet. Wir siud, wie aus unseren in der Folge mitgeteilten Protokollen ersichtlich sein wird, heutzutage nicht mehr berechtigt, aus einer Beobachtung, die solange nach der erfolgten Blutentnahme gemacht wird, einen sicheren Schlufs darauf zu ziehen, dafs zur Zeit der Entnahme schon gelöstes Hämoglobin im Blute gekreist hätte. Es kann der Fall sein, aber es mufs durchaus nicht so sein. Die herkömmliche Methode der Konstatierung einer Hämoglobinämie ist durchaus zu verwerfen, wenn sie allgemeine Gültigkeit beanspruchen will, sie mag in manchen Fällen vielleicht richtige Resultate ergeben, bei Infektionskrankheiten ist sie nicht brauchbar, weil nach unseren Untersuchungen Blutsera infizierter Tiere, die, sofort nach der Entnahme zentrifugiert, normale Färbung zeigen, schon nach wenigen Stunden rötlich, ja weinrot seiu können. Es war da also im lebenden Blute noch kein Hämoglobin in nennenswerten Meugen ausgetreten und keine Hämoglobinämie vorhanden gewesen; vielleicht war aber intra vitam eine Schädigung der Blutkörperchen schon da, welche sich dann aufserhalb des lebenden Körpers in der Lösung der Erythrozyten und Rotfärbung des Serums manifestierte. Wir möchten also den Begriff Hämoglobinämie fernerhin so aufgefafst wissen, dafs derselbe anzeigt, dafs eine dem lebenden Individuum oder sofort nach dem Tode entnommene, und möglichst sofort, längstens aber innerhalb von 30 Minuten zentrifugierte Blutprobe eine Rotfärbung des Serums ergiebt. Finden wir also im Kadaver bei der etwa einige Stunden post mortem vorgenommenen Sektion »Hämoglobinämie«, so müssen wir richtig sageu, es sei »Hämolyse.« Haben wir eine Probe sofort zentrifugiert und keine Lösung konstatiert, finden aber bei gleichzeitig entnommenen aber erst später zentrifugierten Proben dann Hämolyse, so bezeichuen wir diesen Vorgang als Nachhämolyse, ebenso wenn sich in Parallelproben von

solchen, die bei der Entnahme (z. B. sehr bald, aber nicht unmittelbar nach dem Tode) einen geringen Grad von Hämolyse gezeigt hatten, eine deutliche Zunahme der Färbungsintensität nachweisen läfst.

Wir waren, um zu klaren Resultaten in unseren Versuchen zu kommen, genötigt, den Tod der Versuchstiere abzuwarten und unmittelbar nach erfolgtem Tode die Sektion der Tiere und sofort die Blutuntersuchung vorzunehmen. So fanden wir, dafs bei sämtlichen Infektionsversuchen, mit Ausnahme der Milzbrandinfektionen und gewissen Fällen von Staphylokokkeninfektionen eine Hämoglobinämie (Hämolyse intra vitam) im allgemeinen nicht bestanden hat, da wir bei den sofort nach dem Tode entnommenen Blutproben das Serum normal fanden. In dieser Hinsicht ist in unserer seinerzeit über das gleiche Thema erfolgten vorläufigen Mitteilung[1]) der in herkömmlicher Weise angewendete Begriff Hämoglobinämie insbesondere dort in Hämolyse zu korrigieren, wo wir (S. 1119) sagen »von anderen Bakterienarten konnten wir konstatieren, dafs Hühnercholerabakterien beim Kaninchen (6 Fälle) durchaus Hämoglobinämie vom Typus serum purpureum zu erzeugen imstande waren.« Wir hatten ja bei den Sektionen der Tiere, die etwa in der Nacht verendet waren, »Hämoglobinämie« konstatiert, aber das Abwarten des Todes und die sofortige Untersuchung des Blutes, ein Verfahren, das zur theoretischen Begriffsformierung sich als unerläfslich herausstellte, zeigte uns später, dafs diese »Hämoglobinämie« nur als Hämolyse, genauer als Nachhämolyse aufgefafst werden darf.

Um nochmals kurz zusammenzufassen: Die intra vitam oder sogleich nach dem Tode mit einwandsfreier Methode sichergestellte Hämolyse ist Hämoglobinämie, die einige Zeit nach dem Tode erhobene »Hämoglobinämie« im bisher üblichen Sinne ist absolut genommen als Hämolyse, bzw. wenn man dem Umstande Rechnung trägt, dafs zur Zeit des Eintrittes des Todes keine oder eine quantitativ geringere Hämoglobinämie vorhanden war, als Nachhämolyse aufzufassen.

1) Münchner med. Wochenschrift, 1903.

Wir wollen nicht behaupten, dafs das in Lehrbüchern noch stehengebliebene Verfahren zur Konstatierung von Hämoglobinämie heute noch allgemein üblich sei, die moderne Zentrifuge wird wohl damit aufgeräumt haben, aber die Methoden werden in den Lehrbüchern weiter geführt und der alte Begriff der Hämoglobinämie ist erhalten geblieben.

Der Kliniker und der pathologische Anatom werden wohl nur selten in die Lage kommen, sofort nach dem Tode die Sektion vornehmen zu können, es werden daher unsere Untersuchungen, was die Befunde bei eben eingetretenem Tode anbelangt, am Menschen schwer ausführbar sein. Doch wird man auch für die menschliche Pathologie an dem Unterschiede zwischen Hämoglobinämie und Nachhämolyse festhalten müssen. Vielleicht bringt uns auch die Zukunft eine feinere Methode, die die Menge gelösten Blutfarbstoffes quantitativ zu bestimmen gestattet.

Vor Besprechung der einzelnen Infektionen wäre noch über einige Erfahrungen Mitteilung zu machen, die hinsichtlich allgemeiner Fragen aus dem Gebiete der Hämolyse nicht ohne Interesse sein dürften.

## I. Über die Schädigung der Erythrocyten im Tierkörper als Folge der Einverleibung von in vitro erzeugtem Bakteriohämolysin. Über Bindung von Hämolysin im Tierkörper und im Reagensglas.

### Versuche mit Staphylolysin am Kaninchen.

Es ist ein strenges Postulat der Ehrlichschen Theorie, dafs ein Bakteriohämolysin zur Entfaltung seiner Wirksamkeit an die roten Blutzellen gebunden werde, dafs also die haptophore Gruppe des Lysins die Verankerung an das Blutkörperchen bewerkstellige, während dann nach Ablauf einer gewissen Zeit die toxophore Gruppe durch Auflösen des Blutkörperchens bzw. nach Ehrlich durch Erwirken der Durchlässigkeit der diffusionsverhindernden Membran — Diskoplasma Ehrlichs — ihre Wirksamkeit äufsert.

Es war für uns natürlich wichtig, auch über diese Frage experimentell am Tiere orientiert zu sein, einmal weil ja die Reagensglasversuche, an denen diese Frage studiert worden ist, nicht auch unbedingte Gültigkeit für die komplizierten Verhältnisse im Tierkörper haben müssen, dann aber auch, weil diese Frage von Wichtigkeit für die Auffassung unserer Injektionsversuche ist, die Literatur aber eine genügende Orientierung nicht zu bieten vermag.

Es hat zwar Schur (a. a. O.), um ganz allgemein zu konstatieren, ob die Injektion von Hämolysin bei Kaninchen eine die Erythrozyten schädigende Wirkung ausübe, einige Versuche in dieser Richtung angestellt. Schur hat drei Kaninchen subkutan Staphylolysin injiziert und die Tiere nach 1, 2 bzw. 4 Tagen entblutet, von den Blutmengen sterile Aufschwemmungen in isotonischen Kochsalzlösungen angelegt und die Versuchsröhrchen neben den entsprechenden mit normalem Blute beschickten Kontrollen im Brutofen bei 30° aufbewahrt. Es zeigte nun nur das Blut jenes Tieres, welches nach Ablauf von 2 Tagen entblutet worden war, eine deutliche Lösung, während das Blut der beiden anderen Tiere sich wie normales Blut verhielt. Die Lösung im Reagensglas trat erst nach 2tägigem Verweilen im Brutschranke in Erscheinung. Die Reaktion verlief also sehr langsam. Bezüglich der beiden anderen negativ ausgefallenen Versuche kann man zur Erklärung annehmen, dafs vielleicht bei dem nach 24 Stunden getöteten Kaninchen die Wirkungszeit des Lysins zu kurz bemessen gewesen sei, beim anderen (4 Tage) ist die Möglichkeit vorhanden, dafs eine erfolgte Schädigung schon wieder ausgeglichen worden war.

Wir benutzten deshalb zum Studium dieser Frage den Weg, den Tieren das Lysin direkt in die Blutbahn zu injizieren. Um deutliche Resultate zu erhalten, verwendeten wir auch gröfsere Mengen Lysins (30 ccm) als Schur (0,5 ccm).

Wir injizierten einem Kaninchen 30 ccm eines Staphylolysins von Titer $Lo < 0{,}0125$, $Lc = 0{,}4$ ccm, zentripetal in die rechte Vena jugularis. 10 Minuten nach beendeter Operation wurde das Tier aus der linken Art. carotis entblutet, das Blut vorsichtig

defibriniert, sodann in mehrere Röhrchen zu je 2 ccm 0,85proz. Kochsalzlösung je ein Tropfen des Blutes eingebracht, die Röhrchen 2 Stunden bei 37° C gehalten, in der Kälte aufbewahrt und nach 24 Stunden das Resultat notiert. Eine gleiche Anzahl von Proben wurde ohne Brutofenaufenthalt von vornherein in der Kälte gehalten, beiden Versuchen die entsprechenden Kontrollen beigegeben. Aufserdem wurde aktives und inaktives Serum des injizierten Tieres auf seine eventuelle Lösungsfähigkeit gegenüber Normalkaninchenblut geprüft. Tab. II macht das Resultat ersichtlich.

Tabelle II.

| | Erst 2 h bei 37° C, dann Kälte | Immer in der Kälte |
|---|---|---|
| 2 ccm 0,85 proz. Na Cl-Lösung + 1 Tropfen Blut (6 Röhrchen) . . . . . | Lösung | Lösung |
| 2 ccm 0,85 proz. Na Cl-Lösung + 1 Tropfen normales Blut . . . . . | 0 | 0 |
| 2 ccm aktives Serum + 1 Tropfen normales Blut | 0 | 0 |
| 2 ccm inaktives Serum + 1 Tropfen norm. Blut | 0 | 0 |

Dieser nur zur Orientierung angestellte Versuch zeigt uns deutlich, dafs durch die Injektion von Staphylolysin im Gefäfssystem eines Kaninchens die roten Blutzellen derart alteriert waren, dafs sie der Auflösung anheimfallen.

Als wir kurz darauf denselben Versuch unter denselben Bedingungen wiederholten, zeigte das Blut des »Lysinkaninchens« in isotonischer Kochsalzlösung nach 24 Stunden noch keine Lösung; erst nach weiteren 24 Stunden Aufenthalts bei Zimmertemperatur konnten wir in den Röhrchen deutliche Rotfärbung der Flüssigkeit (»Kuppe«) konstatieren. Das defibrinierte Blut aber des Lysinkaninchens, das über Nacht in der Kälte aufbewahrt worden war, zeigte eine intensive Hämolyse, das abgesetzte Serum war purpurrot. Es war auffallend, dafs das geschädigte Blut in seinem eigenen Serum schon nach relativ kurzer Zeit selbst bei geringer Temperatur (ca. 10° C) der Auf-

lösung anheimgefallen war, während in dem nach der üblichen Technik mit demselben Blute angestellten Versuche erst nach ungefähr 48 Stunden eine nennenswerte Lösung eintrat.

Verschiedene Gründe konnten die Schuld daran tragen. Es konnte die starke Lösung im eigenen Serum dadurch erklärbar sein, dafs ja hier eine im Verhältnis viel gröfsere Anzahl von geschädigten Erythrozyten in der Flüssigkeit suspendiert ist, eine Annahme, durch die in einfacher Weise die gröfsere Menge ausgetretenen Hämoglobins ihre Erklärung findet. Im Reagensglas kommen ja auf 2 ccm isotonische Kochsalzlösung, also auf 40 Tropfen ein Tropfen Blut (1:40). Das Verhältnis von Blutkörperchen zum Serum stellt sich im defibrinierten Blute des Kaninchens nach Abderhalden (12) wie 372,1 : 627,9 also ungefähr wie 1 : 1,68.

Anderseits konnte ja das Serum des Lysinkaninchens an und für sich ein besseres Lösungsmittel überhaupt, auch vielleicht deshalb sein, weil in demselben möglicherweise noch eine grofse Menge des injizierten Lysins vorhanden gewesen sein konnte, welche dann beim Stehen noch zur Geltung kam. Wenn auch im oben zitierten orientierenden Versuche das aktive Serum des Lysinkaninchens Normalkaninchenblut nicht gelöst hatte, so hielten wir es doch nicht für überflüssig, der Frage genauer nachzugehen, ob im Serum eines mit Lysin intravenös injizierten Kaninchens ungebundenes Lysin noch vorhanden sein könne.

Theoretisch konnten wir diesen Einwand nicht für gut fundiert halten. Denn ebenso wie wir vom Lysin verlangen, dafs es elektiv (wenigstens nach dem heutigen Stande unserer Kenntnisse) an die roten Blutzellen verankert werde, so müssen wir theoretisch fordern, dafs so lange kein freies Lysin im Serum sich befinden dürfe, als noch mit Lysin nicht abgesättigte Erythrozyten vorhanden sind. Erst aber wenn die Menge des injizierten Lysins die Aufnahmsfähigkeit, den Bindungswert der Erythrozyten überstiege, dürften wir erwarten, freies, ungebundenes Lysin im Serum zu finden, natürlich sofern Lysin nicht etwa auch von anderen Körperzellen gebunden werden kann. Über letzteren Fall sind uns zurzeit aber noch keine Beobach-

tungen bekannt und wollen wir diese Möglichkeit vorderhand nicht weiter in Betracht ziehen.

Wir hatten also zu prüfen, ob das Serum eines Kaninchens, dem Lysin in die Blutbahn eingebracht wurde, gegenüber normalem Kaninchenblut eine lösende Wirkung besitze. Die zu injizierende Lysinmenge ist natürlich so zu wählen, dafs ihr austitriertes hämolytisches Vermögen kleiner ist als die voraussichtliche Bindungsfähigkeit, welche die Blutmenge des Versuchstieres repräsentiert.

Ein Kaninchen von 1720 g erhält 30 ccm Staphylolysin vom Titer 0,4 = Lc in die rechte V. jugularis. 20 Minuten nach Beendigung der Operation wird das Tier aus der linken A. carotis entblutet, das Blut defibriniert und teils zur Serumgewinnung, teils zum Lösungsversuche verwendet.

Wie wir aus den folgenden Tabellen ersehen, hatte in der Tat das Serum des Lysinkaninchens auf normale Kaninchenerythrozyten keine lösende Wirkung ausgeübt, während das Lysinblut in isotonischer Kochsalzlösung sich löste, also bewies, dafs die Bindung des Lysins an die Erythrozyten erfolgt war. Freies Lysin im Serum war also nicht vorhanden gewesen.

Tabelle III.

| | |
|---|---|
| 2 ccm Lysinserum aktiv + normales Kaninchenblut . . . . . | 0 |
| 2 ccm Lysinserum aktiv + Lysinblut . . . . . | + |
| 2 ccm Lysinserum aktiv. Farbenkontrolle. | |
| 2 ccm Lysinserum inaktiv + normales Kaninchenblut . . . . . | 0 |
| 2 ccm Lysinserum inaktiv + Lysinblut . . . . . | + |
| 2 ccm Lysinserum inaktiv. Farbenkontrolle. | |
| 2 ccm normales Kaninchenserum I aktiv + normales Kaninchenblut II | 0 |
| 2 ccm normales Kaninchenserum I aktiv + Lysinblut . . . . . | + |
| 2 ccm normales Kaninchenserum I aktiv. Farbenkontrolle. | |
| 2 ccm normales Kaninchenserum I inaktiv + normales Kaninchenblut II | 0 |
| 2 ccm normales Kaninchenserum I inaktiv + Lysinblut . . . . . | + |
| 2 ccm normales Kaninchenserum I inaktiv. Farbenkontrolle. | |
| 2 ccm 0,85 proz. Na Cl-Lösung + normales Kaninchenblut I . . . . . | 0 |
| 2 ccm 0,85 proz. Na Cl-Lösung + normales Kaninchenblut II . . . . | 0 |
| 2 ccm 0,85 proz. Na Cl-Lösung + Lysinblut . . . . . | + |

Lysinserum: Serum des mit Staphylolysin injizierten Kaninchens.
Lysinblut: Blut desselben.
+: Lösung.
0 : Keine Lösung.

Tabelle IV.

Lösung des Lysinblutes in isotonischer Kochsalzlösung. Bestimmung mit dem Hämometer nach Fleischl.

| 0,85 proz. NaCl Lösung ccm | Zugesetzte Tropfenzahl des Blutes | Hämometerzahlen |
|---|---|---|
| 2 | 1 | 932 |
| 2 | 3 | 2344 |
| 2 | 5 | 4035 |
| 2 | 10 | 7780 |
| 2 | 3 Tropfen normales Blut | keine Lösung |

Die Hämometerzahlen sind mg Hämoglobin in 1000 ccm.

Man könnte nun einwenden, dafs in Tabelle III eine Lösung der normalen Kaninchenerythrozyten im Lysinserum deshalb nicht erfolgt sei, weil das Lysin durch Mischung mit dem Blute des Versuchstieres eine derartige Verdünnung erfahren habe, dafs eine lytische Wirkung schon aus diesem Grunde ausgeblieben wäre. Eine einfache Rechnung wird nun zeigen, dafs der Einwand nichtig sei.

Das verwendete Kaninchen wog 1720 g. Nach den Angaben der Physiologie beträgt die Blutmenge des Kaninchens $^1/_{19}$ seines Körpergewichtes. Unser Versuchstier hatte also 90 g Blut besessen. Zu diesen 90 g, die wir der Einfachheit halber gleich 90 ccm setzen wollen, kamen 30 ccm injiziertes Lysin vom Titre $L_c = 0{,}4$ ccm. Wir hatten also eine Flüssigkeitsmenge von 120 ccm und wollen ganz davon absehen, dafs dieselbe gewifs durch regulatorische Vorgänge von seiten des Organismus vermindert worden war. Die 120 ccm enthielten 30 ccm Lysin, also im ccm 0,25 oder in 2 ccm der im Versuch verwendeten Menge von Serum 0,5 ccm Lysin. Da nun der Titer unseres Lysins $L_c = 0{,}4$ war, also 0,4 ccm unseres Lysins einen Tropfen Kaninchenblutes komplett löste, so müfsten ja doch 2 ccm Serum mit einem ausgerechneten Gehalte von 0,5 ccm Lysin, also noch mehr als $L_c$ gewifs eine lytische Wirkung gehabt haben, wenn eben noch freies Lysin in der Mischung vorhanden gewesen wäre.

Wir können also mit Fug und Recht annehmen, dafs im Serum kein freies Lysin vorhanden gewesen sei, ohne dafs eine Verdünnung für die ausbleibende Lösung verantwortlich zu machen gewesen wäre.

Als wir nun gesehen hatten, dafs im Tierkörper die vollständige Bindung des Lysins in äufserst prompter Weise vor sich gehe, wollten wir noch feststellen, wie sich denn die Bindungsverhältnisse in vitro stellen mögen, denn wir wissen ja seit den Versuchen von Madsen mit dem Tetanolysin, dafs der Nachweis einer solchen Bindung zu gelingen pflegt. Hier war gleichfalls das theoretische Postulat aufrechtzuerhalten, dafs bei entsprechender Bindung von seiten der Blutkörperchen die nach dem Zentrifugieren abgesetzte Flüssigkeit, das Absorbat, keine lösende Wirkung mehr auf rote Blutzellen ausüben dürfe. Bedient man sich bei solchen Bindungsversuchen nicht der Methode von Sachs ([13]), so ist es mitunter unvermeidlich, dafs infolge bereits eingetretener Lyse eine Rotfärbung des Absorbats eintritt, welche uns dann bei der Auswertung des Lösungsvermögens natürlich hindernd in den Weg tritt. Um da die Lösungskraft des Absorbates einwandsfrei feststellen zu können, sieht man sich genötigt, zunächst die Hämometerzahlen des Absorbates in den dem wirklichen Versuche entsprechenden Verdünnungen, natürlich ohne Blutzusatz, festzustellen. Stellt man dann den Versuch mit dem Absorbate und Blutkörperchen an (je ein Tropfen Blut in jedes Röhrchen) und bestimmt nun die Hämometerzahlen der einzelnen Röhrchen, so mufs ein Steigen der Zahlen im Absorbatversuch zugunsten eingetretener Lösung sprechen, uns also anzeigen, dafs unser Absorbat eben nicht frei von Lysin gewesen ist. Differieren die Hämometerzahlen des Versuches nicht wesentlich gegenüber den Zahlen des Absorbates, so kann man annehmen, dafs eine vollständige Bindung des Lysins stattgefunden habe. Schwankungen von 10 Graden beim Fleischlschen Hämometer liegen wohl innerhalb der möglichen Fehlergrenzen und sind erst Differenzen über 10 von Bedeutung. Wir kamen gar nicht in die Lage, diese Erfahrung praktisch verwerten zu können, da in unseren Versuchen die geringste mefsbare Differenz

zwischen Absorbatzahl und der im Versuche erhobenen Zahl 17 betrug.

Von Wichtigkeit ist, bei solchen Versuchen darauf zu sehen, dafs dem Lysin eine solche Blutmenge zugesetzt wird, dafs dem Titer des Lysins entsprechend ein Überschufs an Blut vorhanden sein mufs. Wenn wir z. B. (Tab. V Versuch I) 9 ccm eines Lysins vom Titer 0,4 = $L_c$ absättigen wollen, so müssen wir theoretisch den Lösungswert der 9 ccm mit mindestens $\frac{9}{0,4}$ also 22,5 Tropfen berechnen, da ja 0,4 ccm des Lysins einen Tropfen Blut komplett zu lösen vermögen. Wenn wir nun statt 22,5 etwa 50—60 Tropfen Kaninchenblut zusetzen, so können wir wohl annehmen, dafs ein Überschufs von Blut vorhanden sei. Die folgenden Tabellen registrieren die unter verschiedenen Bedingungen angestellten drei Bindungsversuche.

Tabelle V. Versuch I.

9 ccm Staphylolysin vom Titer 0,4 = Lc + 2,8 ccm = 56 Tropfen Kaninchenblut werden bei Zimmertemperatur gemischt und 24 Std. bei 10° C gehalten. Absorbat dunkelrot. Gewöhnliche Technik der Auswertung eines Lysins. Die Hämometerzahlen geben an wieviel mg Hämoglobin in 1000 ccm der Blutlösung enthalten waren.

| Absorbatmenge in 2 ccm | 0,85 proz. NaCl-Lösung in 2 ccm | Hämometerzahlen vor dem Versuche | Hämometerzahlen nach dem Versuche | Zunahme des Hämoglobingehaltes in % |
|---|---|---|---|---|
| 1,00 | 1,00 | 4425 | 4612 | 4 |
| 0,60 | 1,40 | 3000 | 3802 | 27 |
| 0,40 | 1,60 | 2112 | 2450 | 16 |
| 0,20 | 1,80 | 914 | 1612 | 76 |
| 0,10 | 1,90 | 537 | 759 | 41 |
| 0,05 | 1,95 | 259 | 422 | 62 |
| 0,0125 | 1,987 | < 96 | < 96 | — |

(Siehe Tabelle VI und VII auf S. 207.)

Wenn wir die Resultate der vorstehenden Versuche überblicken, so konstatieren wir als allen gemeinsam die Tatsache, dafs in keinem derselben eine vollständige Bindung des Lysins an die im Überschufs zugesetzten Blutmengen erfolgt war, nachdem ja immer das Absorbat auf Zusatz von 1 Tropfen Blut hin

Tabelle VI. Versuch II.

20 ccm Staphylolysin vom Titer 0,4 = Lc werden mit 150 Tropfen = 7,5 ccm Kaninchenblut gemischt und 30 Minuten bei 37° C gehalten. Absorbat purpurrot. Gewöhnliche Technik der Auswertung eines Lysins.

| Absorbatmenge in 2 ccm | 0,85 proz. Na Cl-Lösung in 2 ccm | Hämometerzahlen vor dem Versuche | Hämometerzahlen nach dem Versuche | Zunahme des Hämoglobingehaltes in % |
|---|---|---|---|---|
| 0,8 | 1,2 | 3460 | 4770 | 37 |
| 0,6 | 1,4 | 3690 | 4192 | 13 |
| 0,4 | 1,6 | 2460 | 3285 | 33 |
| 0,2 | 1,8 | 951 | 2245 | 136 |
| 0,15 | 1,85 | 845 | 2385 | 182 |
| 0,10 | 1,90 | 691 | 1534 | 122 |
| 0,05 | 1,95 | 326 | 624 | 91 |
| 0,025 | 1,975 | 250 | 374 | 49 |
| 0,0125 | 1,9875 | < 96 | 298 | — |

Tabelle VII. Versuch III.

16 ccm Staphylolysin vom Titer 0,4 = Lc und 5 ccm = 100 Tropfen Kaninchenblut werden gesondert, 1½ Std. bei 37° C vorgewärmt, dann vereinigt und weitere 3 Std. bei 37° C gehalten. Absorbat rubinrot. Flüssigkeit steril.

| Absorbatmenge in 2 ccm | 0,85 proz. Na Cl-Lösung in 2 ccm | Hämometerzahlen vor dem Versuche | Hämometerzahlen nach dem Versuche | Zunahme des Hämoglobingehaltes in % |
|---|---|---|---|---|
| 2 | 0 | 2422 | 3114 | 28 |
| 1 | 1 | 1326 | 1956 | 47 |
| 0,8 | 1,2 | 1000 | 1384 | 38 |
| 0,6 | 1,4 | 615 | 920 | 49 |
| 0,4 | 1,6 | 471 | 1080 | 129 |
| 0,2 | 1,8 | 172 | 711 | 313 |
| 0,1 | 1,9 | < 96 | 615 | — |
| 0,05 | 1,95 | < 96 | 259 | — |
| 0,025 | 1,975 | < 96 | < 96 | — |
| 0,0125 | 1,987 | < 96 | < 96 | — |

ansteigende Hämometerzahlen zeigt, also das Absorbat noch Bindungs- und Lösungsvermögen besafs. Wenn wir schon bei Versuch I (Tab. V) a priori nicht angenommen hatten, dafs bei der niedrigen Temperatur eine vollständige Bindung erfolgen werde, auch noch zugeben wollen, dafs in Versuch II (Tab. VI) die Zeit von 30 Min. nicht lange genug bemessen gewesen wäre, um den gewünschten

Effekt zu erzielen, so mufste uns doch in hohem Mafse befremden, dafs auch die in Versuch III (Tab. VII) angewandten Zeiten: eineinhalbstündiges Vorwärmen, dann Verweilen der Mischung durch 3 Stunden bei 37° C nicht genügt hatten, um eine vollständige Binduug zu erzielen.

Ziehen wir nun in Betracht, dafs nach unseren weiter oben mitgeteilten Erfahrungen im Tierkörper sicher 20 Minuten, ja auch schon 10 Minuten nach vollendeter intravasaler Injektion des nicht vorgewärmten Lysins die Bindung vollzogen war, so müssen wir zugeben, dafs die Reagensglasversuche dem Tierversuch gegenüber ein recht kümmerliches Surrogat bedeuten; wenn aber im Tierkörper etwa noch andere Zellenelemente eiue Affinität für Bakteriolysine besitzeu sollten, so würde dieser Umstand erst recht eiuen Vergleich zwischen Reagensglas- und Tierversuch verbieten müssen.

## II. Über die Wirkung des Staphylolysins im Tierkörper bei subkutaner, intraperitonealer oder intravenöser Einverleibung.

Im vorigen Abschnitte haben wir den Nachweis erbracht, dafs man nach intraveuöser Iujektion von Staphylolysin eine Lösung des Blutes des vergifteten Kaninchens sowohl in seinem eigenen als auch im Serum der homologeu Tierart beobachten könne, sowie dafs eine Lösung zum Unterschiede von normalem Kaninchenblut auch in isotonischer Kochsalzlösung erfolge. Wir kounten zeigen, dafs die Bindung zwischen Lysin und Erythrozyten iu Tierkörper in weitaus vollkommenerer Weise zu bewirken und nachzuweisen sei als im Reagensglasversuch. Aber unsere Versuchsanordnung mufste es mit sich bringen, das vergiftete Tier zu entbluten, und somit wurde es uns unmöglich, den zeitlichen Verlauf einer solchen Vergiftung in ihrer Einwirkung auf das Blut zu studieren. Diese Lücke auszufüllen sind die folgeuden Versuche berufen.

Wir bedienten uns hierbei unserer Kapillarmethode, welche sich aufs beste bewährte und vor allem in den Versuchen schön zur Darstellung bringt, wie wichtig es ist, die Konstatierung der Nachhämolyse zur Beobachtung heranzuziehen, da uns ohne

diesen Behelf mancher wertvolle Aufschlufs verborgen bleiben würde (vgl. Nr. 178 u. 193).

Wir injizierten den Kaninchen das Staphylolysin zunächst subkutan. Das Auftreten einer Hämoglobinämie wurde bei diesem Vorgehen nicht beobachtet (vgl. Tab. VIII u. IX). Die Proben, welche sofort nach der Entnahme zentrifugiert worden waren, liefsen ausnahmslos eine Hämolyse vermissen, jedoch zeigten viele Proben deutliche Nachhämolyse. Die Beeinflussung der roten Blutzellen ist durch mehrere Tage hindurch deutlich wahrnehmbar, in Tabelle VIII ist am 4. Tage, in Tabelle IX am 7. Tage noch Nachhämolyse zu beobachten. Bei der zweiten Injektion bei Nr. 178 wird keine Schädigung der Erythrozyten mehr wahrnehmbar, das Tier ist offenbar bereits immun geworden.

Tabelle VIII.

Kaninchen Nr. 193. Subkutane Injektion von Staphylolysin.

| Datum | Gewicht | Zeit der Entnahme | H | NH | |
|---|---|---|---|---|---|
| 15. III. 04 | 1172 | Kontrolle | — | — | Injektion von 10 ccm Staphylolysin. Staph. 88 vom Titre Lo < 0,02, Lc zwischen 0,2 und 0,06. Infiltrat. Nekrose. Schorf. Heilung. |
| Injektion 12h 30' | | 4h | — | — | |
| 16. III. | 1087 | 10h 30' | — | + | |
| 17. III. | 995 | 11h 30' | — | + | |
| | | 12h 30' | — | + | |
| 18. III. | 1005 | 11h 15' | — | — | |
| 19. III. | 1045 | 11h 15' | — | + | |
| 21. III. | 1080 | 10h | — | | |

(Siehe Tabelle IX auf Seite 210.)

Anders wiederum liegen die Verhältnisse bei intraperitonealer Einverleibung des Lysins. Hier sehen wir in jedem der beiden mitgeteilten Fälle überhaupt nur je einmal eine Schädigung der Erythrozyten zum Ausdruck kommen und zwar als Nachhämolyse wie bei der subkutanen Applikation. Die eine Beobachtung (Nr. 194) ist einwandsfrei, bezüglich der anderen (Nr. 177) sagt uns schon das Zeichen ±, dafs die Hämolyse durchaus nicht von zweifelloser Intensität gewesen ist. Im Gegensatze zu den subkutan injizierten Tieren trat hier das Manifestwerden der Schädigung in beiden Fällen schon am Tage nach der Injektion

auf. Dann aber konnte keine Lösung mehr beobachtet werden. Bei Nr. 177 trat auf eine zweite Injektion hin der Tod ein. Bei der Sektion fanden wir das Serum durch Hämoglobin gefärbt. Diese Hämolyse, die in der Folge keine Verstärkung in ihrer Intensität erfuhr, war quantitativ zur Zeit, als wir das Tier sezierten, bereits abgelaufen.

Tabelle IX.

Kaninchen Nr. 178. Snbkutane Injektion von Staphylolysin. Immunität.

| Datum | Zeit der Entnahme | Gewicht | H | NH | |
|---|---|---|---|---|---|
| 22. I. 04 | Kontrolle | 1575 | — | — | I. Injektion 10 ccm Staphylolysin. Staph. 88 vom Titre Lo $<$ 0,02, Lc zwischen 0,5 und 01. |
| 1. Injektion 12h 15′ | 12h 30′ | | — | — | |
| | 4h 30′ | | — | — | |
| 23. I. | 12h 15′ | 1505 | — | — | |
| 25. I. | 11h 30′ | 1430 | — | ± | 2 Tage nach der Injektion beginnende Nekrose der Injektionsstelle, Demarkation, Schorf. Heilung. |
| 26. I. | 12h 30′ | 1375 | — | + | |
| 27. I. | 11h 15′ | 1310 | — | + | |
| 29. I. | 12h 15′ | 1144 | — | ± | |
| 11. III. 04 | Kontrolle | 1380 | — | — | II. Injektion 7 ccm Staphylolysin. Staph. 88. Titre Lo $<$ 0,02, Lc zwischen 0,2 nnd 0,06. |
| 11. Injektion 1h 15′ | 5h 15′ | | — | — | |
| 12. III. | 11h 30′ | 1332 | — | — | |
| 13. III. | 5h | 1322 | — | — | Keine Reaktion an der Injektionsstelle. Geringe Gewichtsabnahme, die schon am 3. Tage ausgeglichen erscheint. |
| 14. III. | 11h | 1382 | — | — | |
| 15. III. | — | 1385 | — | — | |

Tabelle X.

Kaninchen Nr. 194. Intraperiteneale Injektion von Staphylolysin.

| Datum | Zeit der Entnahme | H | NH | |
|---|---|---|---|---|
| 14 III. 04 | Kontrolle | — | — | Anfangsgewicht 1360 g, erhält 10 ccm Filtrat einer 11 Tage alten Bonillonkultnr Stamm Staph. 88, Titre Lo unter 0,02, Lc zwischen 0,2 und 0,06; nimmt stetig ab nnd wird am 15. IV. bei einem Gewicht von 905 g getötet. |
| Injektion 12h | 12h 15′ | — | — | |
| | 1 h | — | — | |
| | 6h 30′ | — | — | |
| 15. III. | 11h 30′ | — | + | |
| 16. III. | 12h 30′ | — | — | |
| 17. III. | 12h | — | — | |

Tabelle XI.

Kaninchen Nr. 177. Intraperitoneale Injektion von Staphylolysin. Tod.

| Datum | Zeit der Entnahme | H | NH | |
|---|---|---|---|---|
| 21. I. 04 | Kontrolle | — | — | Anfangsgewicht 975 g. |
| I. Injektion nm $12^h$ | | | | I. Injektion 10 ccm Filtrat einer 13 Tage alten Bouillonkultur Stamm Staph. 88. |
| | $12^h$ 15′ | — | — | Titre Lo nnter 0,02, Lc zwischen 0,5 |
| | $5^h$ | — | — | nnd 0,1. |
| 22. I. | $11^h$ 30′ Vm. | — | ± ? | Gewicht sinkt bis znm 30. I. auf 870 g, |
| | $4^h$ 30′ Nm. | — | — | stelgt dann wieder an. Das Tier wiegt |
| 23. I. | $12^h$ 10′ | — | — | am 11. III. 1107 g. |
| 11. III. | Kontrolle | — | — | II. Injektion 7 ccm Filtrat einer 11 Tage |
| II. Injektion | | | | alten Bouillonkultur Stamm Staph. 88. |
| $1^h$ 15′ | | | | Titre Lo unter 0,02, Lc zwischen 0,2 und 0,06. |
| | $5^h$ 15′ | — | — | Tod in der Nacht zum 12. III. Sektion |
| | Sektion | + | — | am 13. III. $7^h$ p. m. |
| | | | | Im Bauchraum hellrotes Serum, in der Pleurahöhle viel helles seröses Exsudat, im Herzbeutel ebenfalls viel helles Exsudat mit frischen fibrinös. Auflagerungen. |
| | | | | Kultur · Bauchexsudat, Pleuralexsudat, Herzblut, Leber } steril. |

Gänzlich anders als bei der subkutanen oder intraperitonealen Injektion gestaltet sich die intravenöse Einverleibung des Lysins. Hier tritt entweder eine Hämoglobinämie oder wenigstens Nachhämolyse schon kurze Zeit nach der Injektion in Erscheinung. So bei Nr. 192 schon zehn Minuten nach der Injektion Hämoglobinämie, Nachhämolyse bei Nr. 182 nach 15 Minuten. In beiden Fällen aber finden wir schon in sehr kurzer Zeit den ganzen Prozefs abgelaufen, bei Nr. 182 schon nach 5 Stunden das Blut ohne freies Hämoglobin, bei Nr. 192 ist dies sicher nach 7 Stunden der Fall. Da beide Male auch keine Nachhämolyse nachweisbar ist, so können wir annehmen, dafs zu den angegebenen Zeiten keine geschädigten Erythrozyten mehr kreisten.

Wie wir bei Nr. 182 sehen, hat das Tier auf die zweite intravenöse Injektion kaum mehr reagiert (± NH), nach der dritten In-

jektion ist gar kein Einfluſs auf die Erythrozyten mehr zu sehen, es war Immunität eingetreten.

Tabelle XII.

Kaninchen Nr. 192. Intravenöse Injektion von Staphylolysin.

| Datum | Gewicht | Zeit der Entnahme | H | NH | |
|---|---|---|---|---|---|
| 12. III. 04 Injektion 12h 45' | 1550 | Kontrolle | — | — | Injektion von 7 ccm Staphylolysin Staph. 88. Titre Lo < 0,02, Lc zwischen 0,2 und 0,06. |
| | | 12h 55' | + | + | |
| | | 1h 15' | + | + | |
| | | 4h 45' | — | ± | |
| | | 7h | — | — | |
| 13. III. | 1435 | 11h 30' | — | — | |
| 14. III. | 1465 | 11h 45' | — | — | |

Tabelle XIII.

Kaninchen Nr. 182. Intravenöse Injektion von Staphylolysin. Immunität.

| Datum | Gewicht | Zeit der Entnahme | H | NH | |
|---|---|---|---|---|---|
| 29. 1. 04 I. Injektion 11h 50' | 1827 | Kontrolle | — | — | 1. Injektion 10 ccm Staphylolysin Staph. 88. Titre Lo < 0,02, Lc = 0,2. |
| | | 12h 05' | — | + | |
| | | 12h 50' | — | + | |
| | | 4h 50' | — | — | |
| 30. I. | 1820 | 11h 30' | — | — | |
| 1. II. | 1805 | 11h 30' | — | — | |
| 11. III. II. Injektion 11h 30' | 1795 | Kontrolle | — | — | 11. Injektion 7 ccm Staphylolysin Staph. 88. Titre Lo < 0,02, Lc zwischen 0,2 und 0,06. |
| | | 11h 45' | — | + ? | |
| | | 12h 30' | — | + ? | |
| | | 5h 30' | — | — | |
| 12. III. | 1772 | 11h 30' | — | — | |
| 13. III. | 1800 | 11h 30' | — | — | |
| 14. III. | 1820 | 11h 15' | — | — | |
| 2. IV. III. Injektion 10h 53' | 1790 | Kontrolle | — | — | III. Injektion 10 ccm Staphylolysin Staph. 88. Titre Lo < 0,02, Lc 0,1. |
| | | 11h 08' | — | — | |
| | | 11h 38' | — | — | |
| | | 11h 53' | — | — | |
| | | 2h 53' | — | — | |
| | | 4h 53' | — | — | |

Es scheint uns hier nötig, darauf hinzuweisen, dafs Neifser und Wechsberg [14]) in ihrer noch mehrfach zu zitierenden Arbeit angeben, dafs ihnen die Erzeugung eines Antistaphylolysins am besten bei subkutaner Einverleibung gelungen sei; die intravenöse Injektion hätte sich entschieden als unzuverlässiger gezeigt als jene und nur in einem Falle ist es den Autoren gelungen, durch intravenöse Injektion ein »Antitoxin mäfsiger Stärke« zu erzeugen, die intraperitoneale Immunisierung aber hätte den Autoren mehrfach versagt. Letztere Angabe konnten wir nicht nachprüfen, da unsere intraperitoneal injizierten Tiere den absichtlich hoch bemessenen Dosen erlagen, während die mit gleichen Dosen subkutan und intravenös vorbehandelten Kaninchen nur vorübergehend im Gewicht abfielen und eine vollkommene Immunität erlangten. Einen Unterschied aber in der Stärke der auf dem einen oder anderen der beiden Wege erlangten Immunsera konnten wir nicht beobachten, die intravenöse Immunisierung leistete nicht weniger als die subkutane, wie die beiden folgenden Tabellen zeigen mögen. Die Immunsera wurden mit den Lysinmengen gemischt, eine Stunde bei 37° C gehalten, sodann erst jedem Röhrchen ein Tropfen normalen Kaninchenblutes zugefügt und nach üblicher Methode beobachtet.

Tabelle XIV.

Titer des Antistaphylolysins des Kaninchens Nr. 178 (subkutane Injektion).

| Staphylolysin | Antitoxin (Serum) | 0,85 proz. NaCl-Lösung | Lösung + keine Lös. 0 |
|---|---|---|---|
| 0,5 | 0,5 | 1 | 0 |
| 0,5 | 0,4 | 1,1 | 0 |
| 0,5 | 0,3 | 1,2 | 0 |
| 0,5 | 0,2 | 1,3 | 0 |
| 0,5 | 0,1 | 1,4 | 0 |
| 0,5 | 0,08 | 1,5 | 0 |
| 0,5 | 0,06 | 1,5 | + |
| Kontrolle | 0,5 | 1,5 | 0 |
| Kontrolle | — | 2 | 0 |

Tabelle XV.

Titer des Antistaphylolysins des Kaninchens Nr. 182 (intravenöse Injektion).

| Staphylolysin | Antitoxin (Serum) | 0,85 proz. Na Cl-Lösung | Lösung + keine Lös. 0 |
|---|---|---|---|
| 0,5 | 0,5 | 1 | 0 |
| 0,5 | 0,4 | 1,1 | 0 |
| 0,5 | 0,3 | 1,2 | 0 |
| 0,5 | 0,2 | 1,3 | 0 |
| 0,5 | 0,1 | 1,4 | 0 |
| 0,5 | 0,08 | 1,5 | 0 |
| 0,5 | 0,06 | 1,5 | 0 |
| 0,5 | 0,05 | 1,5 | + |
| 0,5 | 0,03 | 1,5 | + |
| 0,5 | 0,01 | 1,5 | + |
| 0,5 | 0,005 | 1,5 | + |
| Kontrolle | 0,5 | 1,5 | 0 |
| Kontrolle | — | 2 | 0 |

## III. Über die Resistenz normaler Kaninchenerythrocyten gegenüber Staphylolysin.

Das Vorhandensein von Antihämolysin in normalen Tierseris ist eine von allen Beobachtern, die über Hämolysine gearbeitet haben, mit grofser Einhelligkeit berichtete Tatsache, ebenso wird über grofse Schwankungen im Antihämolysin konstant Mitteilung gemacht. Neisser und Wechsberg (l. c.) haben gelegentlich ihrer Untersuchungen über das Staphylotoxin natürlich auch das Verhalten normaler Erythrozyten (gewaschen und ungewaschen) dem Staphylolysin gegenüber geprüft. Sie fanden, dafs die Empfindlichkeit der genuinen Kaninchenerythrozyten sich nicht unterschied von der der gewaschenen. Diese Eigenschaft des normalen Kaninchenblutes, in seinem Serum keinen Antikörper gegen das Staphylotoxin zu beherbergen, hatte es zur Folge, dafs mit Staphylolysin arbeitende Untersucher mit Vorliebe Kaninchenblut benutzen, weil man der immerhin zeitraubenden Aufgabe, die roten Blutzellen vor der Verwendung waschen und so vom Serum befreien zu müssen, gänzlich überhoben wird.

Eine zweite Versuchsreihe der genannten Forscher zeigte, dafs bei Einstellung eines Toxins gegen Blutkörperchen verschiedener Kaninchen bei gleichem Lc-Wert der Wert für Lo sehr verschieden liegen kann. Neisser und Wechsberg erklären diese Tatsache damit, dafs ja nicht alle Erythrozyten gleich empfindlich gegen das Staphylolysin zu sein brauchen, dafs stets eine gewisse Menge von widerstandsfähigeren roten Blutzellen vorhanden sei, welche den Wert Lc des Toxins bestimmen, dafs aber anderseits sehr empfindliche Erythrozyten, von deren Lösung der Wert Lo abhängt, nicht immer vorhanden sein müssen.

Als wir ein Staphylolysin, das zur Austitrierung eines Antitoxins bestimmt war, auf seine Lösungsfähigkeit prüften, bemerkten wir, dafs in unserem Auswertungsversuch der Wert Lc überhaupt nicht erreicht wurde, was uns umsomehr überraschte, als wir unter Einhaltung der gleichen Kulturbedingungen mit dem betreffenden Staphylokokkenstamme immer einen Wert von Lc nicht über 0,2 erhalten hatten.

Da wir überhaupt den Verdacht hegten, es könne doch vielleicht etwa als individuelle Eigenschaft mitunter im Serum der Kaninchen ein Antikörper normalerweise vorhanden sein, so hatten wir, wie immer bei wichtigeren Versuchen, so auch diesmal den Versuch mit gewaschenen und ungewaschenen Erythrozyten vorgenommen. Das absolut gleiche Verhalten beider bewies a priori, dafs es sich hier hinsichtlich der äufserst geringen Wirkung des verwendeten Lysins keineswegs um eine Herabsetzung der lytischen Kraft desselben durch einen normalerweise im Serum vorhandenen Antikörper handeln könne, und wir vermuten eine abnorme Resistenz der Erythrozyten als Grund der mangelhaften Lösung.

Das Experiment gab uns recht.

Wir stellten sofort einen zweiten Versuch mit gewaschenen Erythrozyten eines zweiten Kaninchens und demselben Lysin an und erhielten diesmal einen Wert von $Lc < 0{,}06$, während, wie oben bemerkt, im anderen Versuche Lc überhaupt nicht erreicht worden war.

Tabelle XVI.

| Staphylolysin D in 2 ccm | 0,85 proz. NaCl-Lös. in 2 ccm | Erythrozyten Kaninchen I | | Kaninchen II gewaschen |
|---|---|---|---|---|
| | | gewaschen | nn-gewaschen | |
| 2 | 0 | stark rot, kleine Linse[1] | | rot, nicht agglut. Linse |
| 1 | 1 | do. | | komplett |
| 0,8 | 1,2 | do. | | do. |
| 0,6 | 1,4 | do. | | do. |
| 0,4 | 1,6 | stark rot, grofse Linse | | do. |
| 0,2 | 1,8 | do. | | do. |
| 0,1 | 1,9 | do. | | do. |
| 0,08 | 1,92 | do. | | do. |
| 0,06 | 1,94 | do. | | do. |

Dieses Resultat steht in gewaltigem Widerspruche zur Behauptung von Neisser und Wechsberg, die sagen, dafs »die Blutkörperchen verschiedener Kaninchen bezüglich der Grenze komplette Lösung erhebliche Schwankungen in ihrer Empfindlichkeit nicht aufwiesen.« Der Abstand der Werte Lc $< 0{,}06$ bei Kaninchen II und Lc auch in 100proz. Konzentration im reinen unverdünnten Staphylolysin bei Kaninchen I überhaupt nicht erreicht, ist wohl so grofs, dafs die Gültigkeit des Ausspruches von Neisser und Wechsberg fernerhin nicht mehr aufrechterhalten werden kann.

Eine Erklärung für dieses ungleiche Verhalten des Blutes zweier verschiedener Individuen derselben Spezies gegen ein und dasselbe Lysin ist nicht so leicht zu geben. Wir können nur sagen, dafs viele der Blutkörperchen des Kaninchens I eine ganz besondere Resistenz besessen haben müssen, nach der Ehrlichschen Theorie ausgedrückt, dafs vielen Erythrozyten einfach das Vermögen abgegangen sein müsse, Lysin zu binden. Den Chemismus dieser Erscheinung aber aufzuklären, wird späteren Zeiten vorbehalten sein müssen.

1) Der Ausdruck Linse bezieht sich auf die am Boden in Linsenform liegenden, meist agglutinierten Blutkörperchen.

## IV. Über die Resistenz der Erythrocyten mit Staphylolysin immunisierter Kaninchen gegen Staphylolysin.

Die auffallende Resistenz, welche die normalen Blutkörperchen in Tabelle XVI gezeigt hatten, veranlafste uns, Untersuchungen darüber anzustellen, ob denn bei immunisierten Tieren die Immunität gegen weitere Injektionen von Lysin lediglich als Serumwirkung aufzufassen sei, oder ob vielleicht neben derselben auch eine gesteigerte Resistenz der serumfreien Erythrocyten zu beobachten sein werde.

Injiziert man normalen Kaninchen Staphylotoxin in eine Vene, so kommt es zur Hämolyse, die sich entweder als Hämoglobinämie oder als Nachhämolyse äufsert. Wiederholt man nach einiger Zeit solche Injektionen, so kommen wir zu dem Resultate, dafs eine Lösung der Erythrocyten nicht mehr stattfindet, das Tier ist immun geworden, was die Hämolysierung seines Blutes anbelangt. Das Serum der Immuntiere ist in vitro imstande, die Wirkung von Staphylolysin auf Erythrocyten zu paralysieren und so vor der Auflösung zu schützen. Solche Versuche sind in genügender Anzahl gemacht worden, aber über das Verhalten der Erythrocyten der immunisierten Tiere sind uns Angaben in der Literatur bisher nicht vorgelegen.

Wir verwendeten zu den entsprechenden Versuchen das Blut von zwei Kaninchen, die durch subkutane und durch intravenöse Einverleibung entsprechender Lysinmengen immunisiert worden waren. Der Antitoxingehalt der Sera dieser Tiere war so grofs, dafs die Einheit des Serums die Wirkung der zehnfachen Menge Staphylolysins aufzuheben imstande war. Das defibrinierte Blut der Tiere, bzw. die gewaschenen Erythrocyten wurden in der Weise geprüft, wie man einen Auswertungsversuch mit einem zu untersuchenden Lysin anstellt, die erhaltenen Resultate illustrieren die folgenden Tabellen.

(Siehe Tabelle XVII und XVIII auf S. 218.)

Ein kurzer Blick genügt nun, um zu ersehen, dafs die Erythrocyten der Immuntiere durchaus keine Resistenz gegen die Wirkung des Lysins aufzuweisen haben, in beiden Versuchen

Tabelle XVII.

Kaninchen Nr. 178, durch subkutane Injektion immunisiert.

| Lysin in 2 ccm | 0,85 proz. NaCl-Lösung in 2 ccm | Erythrocyten | |
|---|---|---|---|
| | | gewaschen | ungewaschen |
| 2 | 0 | komplett | komplett |
| 1 | 1 | do. | do. |
| 0,8 | 1,2 | do. | do. |
| 0,6 | 1,4 | do. | do. |
| 0,4 | 1,6 | do. | fast komplett |
| 0,2 | 1,8 | do. | stark rot |
| 0,1 | 1,9 | do. | do. |
| 0,08 | 1,92 | do. | rosenrot |
| 0,06 | 1,94 | fast komplett | 0 |

Die Wirksamkeit des Lysins auf Normalblut siehe Tabelle XVI.

Tabelle XVIII.

Kaninchen Nr. 182, durch intravenöse Injektion immunisiert.

| Lysin in 2 ccm | 0,85 proz. NaCl-Lösung in 2 ccm | Erythrocyten | |
|---|---|---|---|
| | | gewaschen | ungewaschen |
| 2 | 0 | komplett | komplett |
| 1 | 1 | do. | do. |
| 0,8 | 1,2 | do. | do. |
| 0,6 | 1,4 | do. | do. |
| 0,4 | 1,6 | do. | do. |
| 0,2 | 1,8 | do. | fast komplett |
| 0,1 | 1,9 | do. | stark rot |
| 0,08 | 1,92 | do. | schwach rot |
| 0,06 | 1,94 | fast komplett | rosenrot |

Die Wirksamkeit des Lysins auf Normalblut ist in Tabelle XVI aufgezeichnet.

war Lc bei 0,08 (gewaschene Blutkörperchen) gelegen. Nur die gewaschenen Blutkörperchen konnten ja für diesen Versuch ausschlaggebend erscheinen, denn die nicht gewaschenen hatten ja naturgemäfs Immunserum anhaften. Diese schützende Wirkung kommt auch bei letzteren in der Tabelle gut zur Darstellung, nur ist es erstaunlich, eine wie grofse Wirkung hier so kleine Mengen von Serum, wie sie auf den entsprechenden Anteil eines Tropfens entfallen, auszuüben in der Lage sind. Bei

Kaninchen 178 geht der Wert von Lc = 0,08 auf 0,6 zurück, bei Kaninchen 182 von ebenfalls 0,08 auf 0,4. Auch Meinicke ([15]) weist in einer eben erschienenen Arbeit darauf hin, welch starke schützende Kraft die in einem Bluttropfen enthaltene Menge spezifischen Serums zu entfalten vermag.

Aus den vorstehenden Versuchen geht klar hervor, dafs die Erythrocyten von Kaninchen, deren Blut einen spezifischen Antikörper gegen das homologe Bakteriolysin besitzt, von diesem Bakteriolysin ebenso gelöst werden, wie normale Erythrocyten; die schützende Kraft haftet am Serum der Immuntiere. Aus dem Befunde, dafs wir intravenös immunisierten Kaninchen-Lysinmengen in die Blutbahn einspritzen können, ohne dafs eine Lösung erfolgt, trotzdem ja doch ein inniger Kontakt zwischen der injizierten Flüssigkeit und den roten Blutzellen des Tieres anzunehmen ist, schliefsen wir, dafs der Antikörper im Serum des Immuntieres eine gröfsere Avidität zum Lysin besitzen mufs, als für dieses die Erythrocyten besitzen, dafs der avide Antikörper also alles Lysin rasch an sich reifst und neutralisiert, so dafs die Erythrocyten nicht durch Bindung des Lysins geschädigt werden können.

## Infektionsversuche.

### I. Staphylococcus pyogenes aureus.

Kraus und Clairmont ([16]) fanden 1900, dafs es Stämme von Aureus gibt, welche kein Bakteriolysin erzeugen, neben solchen, denen Hämolysinbildung eigen ist.

Neisser und Wechsberg haben 1901 dann das Staphylotoxin in eingehender und genauer Weise studiert; ihre Technik ist von den meisten Autoren akzeptiert worden, und ihre Arbeit ist zurzeit so viel zitiert und so bekannt, dafs es überflüssig erscheint, auf dieselbe genauer einzugehen.

Bajardi ([17]) hat im selben Jahre das hämolytische Vermögen der Staphylokokken untersucht und berichtet, dafs Bouillonkulturen des Staph. aureus und albus auf die roten Blutkörperchen des Kaninchens (gewaschen und ungewaschen) hämo-

lytisch wirken. Bajardi behauptet auch den Zusammenhang zwischen hämolytischer und pyogener Eigenschaft.

Kraus und Ludwig haben Kaninchen subkutan Bouillonkulturen von Staphylococcus aureus injiziert, also gleichzeitig Hämolysin und lebende Bakterien einverleibt; sie konnten konstatieren, dafs eine bedeutende Abnahme der roten Blutzellen erfolgte. Die normale Zahl derselben war durch Kontrollen auf $5^1/_2$—$6^1/_2$ Millionen im Kubikzentimeter festgestellt worden, und nach der Injektion vorgenommene Zählungen zeigten, dafs Abnahmen von 1, 2, ja bis 4 Millionen stattgefunden hatten. Dafs wir heute schon ein Recht hätten, solche Abnahmen ganz allein durch die Hämolysinwirkung zu erklären — Kraus und Ludwig berühren diese Frage nicht — möchten wir sehr bezweifeln, denn es ist ja durchaus nicht ausgeschlossen, dafs nicht im Verlaufe der Infektion durch ein Darniederliegen der Blutbildung durch toxische nicht hämolytische Einflüsse ein Ersatz der durch das Lysin zerstörten Blutzellen hintangehalten werde. Wenn wir bedenken, dafs wir in unseren Versuchen bei der chronischen Staphylokokkeninfektion mit Ausgang in multiple Abszefsbildung Hämolyse niemals konstatieren konnten, während das Tier doch zugrunde geht, so gewinnt vielleicht unsere Anschauung an Berechtigung.

Die Arbeit von van Durme [18] ist im wesentlichen eine Nachprüfung und Bestätigung der Befunde von Neisser und Wechsberg. Er neigt der Ansicht zu, die heute nicht von allen Autoren geteilt wird, dafs ein enger Zusammenhang zwischen Pathogenität und hämolytischem Vermögen der Traubenkokken bestehe, gibt aber gleichzeitig zu, dafs die Akten über diese Frage noch nicht geschlossen sind.

Kutscher und Konrich [19] haben das Verhältnis studiert, in dem die Agglutinationsfähigkeit der Staphylokokken zur Hämolysinbildung steht und gefunden, dafs zwischen beiden gesetzmäfsige Beziehungen bestehen. Echte, eitererregende, durch ein spezifisches Serum agglutinable Staphylokokken bildeten ausnahmslos Hämolysin, eine Eigenschaft, welche sich nach der Ansicht der Verfasser bei saprophytischen Kokken nicht finde

und zur Differenzierung pathogener und nicht pathogener Kokken zu verwenden wäre.

Eine während der Abfassung des vorliegenden Berichtes von Fränkel und Baumann[20] publizierte Arbeit zeigt sich nicht in allen Punkten mit den Resultaten von Neisser und Wechsberg einverstanden. So berichten Fränkel und Baumann, dafs sie bei den meisten ihrer Kulturen die ersten Spuren der blutlösenden Fähigkeit schon nach eintägigem Aufenthalte im Brutschranke konstatieren konnten, während Neisser und Wechsberg erst nach 4 Tagen Hämolysinbildung beobachtet haben. Auch betonen Fränkel und Baumann, dafs sie den Höhepunkt der Lysinproduktion zwischen dem 6. und 10. gegenüber dem 10. und 14. Tage von Neisser und Wechsberg gefunden hätten.

Scheinen nun auch diese Unterschiede von untergeordneter Bedeutung, so müssen wir doch ein Moment in der Methodik hervorheben, das gewifs nicht gleichgültig sein kann.

Fränkel und Baumann arbeiteten mit nichtfiltrierten Bouillonkulturen, Neisser und Wechsberg haben Filtrate verwendet. Schon dieser Unterschied in der Technik schliefst einen Vergleich der Resultate aus. Einmal könnte ja bei der Verwendung von Bouillonkulturen die Wirkung der lebenden Bakterienleiber, über deren Einflufs auf die Blutkörperchen nicht viele Erfahrungen gesammelt sind, gewifs neben dem Einflusse der Stoffwechselprodukte in Betracht kommen, anderseits geben Fränkel und Baumann ja selbst an, dafs sie fanden, dafs durch den Filtrationsprozefs die hämolytische Kraft der Kulturen vermindert zu werden scheine, eine Erfahrung, die auch wir gemacht haben. Kann da nicht in den Versuchen von Fränkel und Baumann eine additive Wirkung von Stoffwechselprodukt und Bakterienleibern, und wenn es sich bezüglich letzterer auch nur um katalytische Beeinflussung handeln sollte, einen stärkeren hämolytischen Effekt erzielt haben gegenüber der durch die Filtration vielleicht verminderten hämolytischen Kraft der Kulturen von Neisser und Wechsberg?

Prinzipiell wichtiger ist eine andere Beobachtung, die Fränkel und Baumann gemacht haben. Sie betrifft die Thermostabilität des Staphylolysins. Neisser und Wechsberg erreichten eine Inaktivierung ihrer Kulturfiltrate durch 20 Minuten langes Erwärmen bei 56°. Fränkel und Baumann erzielten durch halbstündiges Erwärmthalten bei 60° nur eine Abnahme der hämolytischen Kraft; ja zwei Filtrate wurden durch Erhitzen auf 80 bzw. 100° nicht ihrer hämolytischen Fähigkeit beraubt. Diese Hitzebeständigkeit hat Analoga im Typhus-, Koli- und Pyocyaneus-Lysin.

Wir hatten zu wiederholten Malen Inaktivierungen von Staphylolysin verschiedener Stämme vorzunehmen, aber bei unseren Filtraten genügte stets ein halbstündiges Verweilen im Wasserbade von 65° C, um den gewünschten Zweck zu erreichen. Es scheinen sich auch hierin nicht alle Staphylokokkenstämme gleich zu verhalten, vielleicht auch beeinflufst die Kulturmethode die Eigenschaften des Lysins.

### Untersuchungen über Hämolyse bei mit Staph. pyog. aureus infizierten Kaninchen.

Das Kaninchen stellt nach Neisser und Lipstein [25]) das klassische Versuchstier für Staphylokokkeninjektionen dar und die klassische Applikation ist nach Ausspruch der beiden Autoren die intravenöse Einspritzung. Es ist ja ein jedem Bakteriologen bekannter Laboratoriumsversuch, die Injektion des Kaninchens durch intravenöse Einverleibung von Kartoffelbrei mit Staphylokokkenkultur vermischt vorzunehmen. Eine alte Erfahrung aber im Laboratorium ist es, dafs die Staphylokokken in fast allen ihren Eigenschaften eine grofse Unverläfslichkeit an den Tag legen. Die Stämme schwanken sehr in ihrer Virulenz, auch die Bildung von Hämolysin geht in vitro nicht immer Hand in Hand mit der Virulenz; so berichten uns Neisser und Wechsberg in einem Stamme, der bei erhaltener Virulenz die Fähigkeit der Hämolysinproduktion gänzlich verloren hatte.

Tödlich verlaufende Infektionen kann man sowohl durch intravenöse als auch durch intraperitoneale Einverleibung des

Infektionsmaterials erzielen, wobei es ziemlich gleichgültig sein dürfte, welchen Modus man wählt, wenn man nur bei der intraperitonealen Einverleibung grofse Mengen von Kultur einbringt, denn das Kaninchen gilt für die intraperitoneale Infektion verhältnismäfsig weniger empfänglich.

Jedenfalls war für unseren Versuchsplan zunächst die intravenöse Infektion als die günstigere Chancen bietende heranzuziehen, wenn wir auch später die intraperitoneale nicht aufser acht lassen wollten. Die Infektionen nahmen wir immer nur mit Agarkulturen vor. Die Einbringung von Bouillonkulturen schliefst ja auch das Einverleiben von Giftmengen in sich, ein Umstand, den wir lieber vermieden wissen wollten. Der chronische Krankheitsverlauf mit multiplen Abscedierungen, der so oft beobachteten Endo- und Pericarditis sollte ebenso für unsere Untersuchungen herangezogen werden, wie der durch hochvirulente Kultur bedingte innerhalb weniger Stunden mitunter schon tödlich verlaufende Prozefs.

Beide Typen des Verlaufes zeigen bezüglich der Hämolyse ein durchaus verschiedenes Verhalteu. Bei dem chronischen Verlaufe (Tab. XIX) sehen wir intra vitam weder Hämolyse noch Nachhämolyse auftreten, ja auch bei der Sektion ist weder Hämolyse noch Nachhämolyse zu beobachten. Trotzdem Staphylokokken im Blute zirkulieren, üben dieselben hier keine hämolytische Wirkung aus. Gänzlich anders stehen die Dinge aber bei jenem Falle, wo der Tod rasch nach der Injektion erfolgte (Tab. XX). Da finden wir schon 1 Stunde nach der Einverleibung Hämolyse, hier Hämoglobinämie, ein Befund, der natürlich bei der sofort nach dem Tode (ca. 5 Std. nach der Injektion) vorgenommenen Sektion bestätigt wird.

(Siehe Tabelle XIX und XX auf S. 224.)

Besprechen wir nun die Resultate der intraperitonealen Infektionen (Tab. XXI und XXII), so sehen wir, dafs hier die Verhältnisse ganz eigentümlich sich gestalten. Das eine Tier (Nr. 90) reagiert auf die erste Infektion nur mit einer ± NH. Nach 7 Tagen wird ihm eine zweite Kultur (1 Agarröhrchen) einge-

Tabelle XIX.

Staphylococcus pyogenes aureus. Intravenöse Injektion. Kaninchen Nr. 86.

| Datum | | Hämolyse | Nachhämolyse | Bakteriologischer Blutbefund | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | mikroskopisch | Agarstrich | |
| 16. VI. 1903 | Serumkontrolle | — | — | | | Schon am 17. VI. schwer krank. |
| 5h 50′ p. m. | Agarkultur-aufschw. intravenöse Ohrvene | | | | | Am 19. VI. Nm. auf der Seite liegend, erholt sich dann. |
| | | | | | | Am 20. VI. Früh auf der Seite liegend, agonal, lebt noch um 1h 30′, wird um 2h tot, noch ganz warm, gefunden. Sektion 4 h. |
| 17. VI. | 11h 45′ | — | — | spärliche Diplokokken | 11 Kol. Staph. | |
| | 4h | — | — | 0 | 44 Kol. Staph. | Befund: Auf dem Herzbeutel Fibrinauflagerungen, derselbe mit dem Sternum schwartig verwachsen. In beiden Nieren Abszesse. |
| 18. VI. | 11h 45′ | — | — | 0 | 1 Kol. Staph. | |
| | 6h 30′ | — | — | 0 | 10 Kol. Staph. | |
| 19. VI. | 12h | — | — | zahlreiche Kokken | voll bewachsener Strich | Kultur. Herzblut: 56 Kol. Staph. anr. |
| | | | | | | Leber: steril. |
| | 6h | — | — | 0 | do. | Milz: 1 Kol. Staph. |
| 20. VI. | 12h | — | — | wenige Kokken | steril | Harn: Staph. aureus rein. |
| Sektion | 4h | — | — | | | Keine Hämoglobinurie. |

Tabelle XX.

Staphylococcus pyogenes aureus. Intravenöse Injektion. Kaninchen Nr. 206.

| Datum | | Hämolyse | Nachhämolyse | |
|---|---|---|---|---|
| 21. V. 1904 um 11h | Serumkontrolle Kulturaufschwemmung in die rechte Ohrvene | — | — | Tod um 3h 40′. Sektion sofort. Sektionsbefund: Starker Meteorismus. Wenig helles Serum im Perikard. Leber schlaff. Milz blutreich, prall, brüchig. |
| | 11h 05′ | | Ser. purpureum | Kultur: Herzblut } Staphylococcus pyogenes aureus. |
| | 12h 05′ | + | Ser. purpureum | Leber } |
| Sektion | 3h 40′ | + | Ser. purpurenm | Milz } |

spritzt, das Tier geht innerhalb von 6 Stunden zugrunde, es zeigt weder intra vitam noch bei der Sektion eine auf vorausgegangene Blutkörperchenlösung hinweisende Veränderung des Serums. Wenn wir das Sektionsprotokoll genauer beachten, so wird uns aber auffallen, dafs eine alte Peritonitis (noch von der ersten Injektion verursacht) bestand und dafs wir in der Bauchwand Abszefsbildung konstatieren konnten. Wir haben es hier also offenbar auch mit einem chronischen Prozefs zu tun (vgl. Tab. XIX) und ebenso wie in dem Falle, auf welchen wir eben verwiesen haben, kam auch hier eine Hämolyse in keiner Form zur Beobachtung.

Anders im zweiten Falle (Tab. XXII). Dieses Tier erhielt am 16. Juni 1903 eine Aufschwemmung von Staphylokokken (Agarkultur) intraperitoneal, es reagierte kaum, ja sein Gewicht übertraf am 6. Tage nach der Infektion sein Anfangsgewicht. Am 7. Tage erhält das Tier zwei Agarröhrchen intraperitoneal injiziert. Es zeigt uns $\pm$ NH am Tage darauf, nimmt ab, erholt sich rasch und zeigt dann eine schwankende Gewichtskurve. Zirka 14 Tage nach der zweiten Infektion erhält das Tier vier Röhrchen Agarkultur intraperitoneal. Es zeigt zirka $3^1/_2$ Stunden später Hämoglobinämie, geht 4 Stunden nach der Infektion zugrunde, die Sektion zeigt das Andauern der Hämoglobinämie, aber keine Anhaltspunkte, dafs die beiden ersten Injektionen irgendwelche Läsionen im Gefolge gehabt hätten.

Wir haben also bei unseren Staphylokokkeninfektionen sowohl mit intravenöser wie auch mit intraperitonealer Infektion zweierlei durchaus verschiedene Resultate erhalten.

Einmal jene Fälle (Nr. 86 und 90), in denen der Verlauf der Krankheit ein langsamer war, wo es zur Ausbildung von Abszessen in den Nieren, zu entzündlichen Prozessen des Pericards, zu schwartigen Verwachsungen gekommen ist, wo — bei intraperitonealer Einverleibung — eine fibrinöse Peritonitis und Abscedierung der Bauchwand die Infektion bezeugen, bei denen aber Hämolyse in keiner Form konstatiert werden konnte. Die andere Gruppe ist jene (Nr. 88 und 206), wo die Tiere entweder der ersten (intravenösen) Infektion in kürzester Zeit erlagen, oder,

Digitized by Google

ohne auf eine wiederholte (intraperitoneale) Infektion reagiert zu haben, infolge einer gröfseren Dosis von Infektionsmaterial ebenfalls in kürzester Zeit starben. In beiden Fällen konstatieren wir Hämolyse als Hämoglobinämie und Nachhämolyse.

Wir sehen da Hämolyse zunächst in den Fällen auftreten, wo der Tod akutest eintritt (Nr. 88 und 206). Hier werden wir zur Erklärung des Auftretens der Hämolyse leicht mit der Auskunft uns zufrieden geben, es seien die Kulturen hochvirulent gewesen und dementsprechend eine tödliche und nach der Ansicht vieler Autoren auch entsprechend stark hämolysierende Wirkung erfolgt. Letztere kann man sich vorstellen, als durch direkte Einwirkung der Bakterienleiber auf die roten Blutzellen bedingt, insbesondere in jenen Fällen, wo ja durch intravenöse Injektion die Staphylokokken direkt in die Blutbahn gelangen (Nr. 206), für die intraperitoneale Einverleibung könnte auch noch der Auffassung Rechnung getragen werden, dafs etwa durch die Peritonealflüssigkeit Giftsubstanzen der Staphylokokken ausgelaugt und im Wege des Kreislaufes rasch an die Erythrocyten gebracht würden.

Wie stehen wir aber Nr. 90 Tabelle XXI gegenüber?

Hier ist ebenfalls auf die intraperitoneale Einverleibung des Bakterienmaterials hin in kurzer Zeit, innerhalb von 6 Stunden der Tod erfolgt, aber wir konnten weder Hämolyse noch Nachhämolyse weder intra vitam noch bei der Sektion konstatieren. Wohl aber fand sich, wie schon oben bemerkt, eine Peritonitis älteren Datums und Abszefsbildung. Wir sind da vielleicht mit unserer erneuten Injektion der Entwicklung eines kachektischen Stadiums, das auch mit dem Tode geendet hätte, zuvorgekommen, indem wir durch Einführung frischen, nicht als Hämolysin sondern als Endotoxin zu charakterisierenden Giftes den Prozefs zum raschen letalen Ende brachten. Aber die Hämolyse blieb hier aus, und für diese Erscheinung möchten wir uns bemühen, eine Erklärung zu finden.

Es erscheint uns nicht unmöglich, dafs infolge der früheren Injektion eine gewisse einseitige, nur das hämolytische Vermögen der dann frisch eingebrachten Kulturmengen paralysierende Immunität erreicht worden sei. Die Annahme dieser Möglichkeit

scheint uns wohl etwas gezwungen zu sein, insbesondere wenn wir uns erinnern, dafs durch intraperitoneale Einverleibung von Staphylolysin Neisser und Wechsberg eine Antikörperbildung beim Kaninchen nicht gelungen ist. Auch wenn wir Tabelle XXII Nr. 88 in Betracht ziehen, steigen uns Bedenken auf. Hier ist ja das Tier nach zwei erfolglosen Injektionen der dritten binnen wenigen Stunden unter der Erscheinung von Hämoglobinämie erlegen, ohne dafs die vorangehenden Infektionen eine Immunität gegen Hämolyse erzeugt hätten. Aber da müssen wir doch in Rechnung bringen, dafs die Immunitätslehre bei Staphylokokkeninfektionen ein noch zu wenig bekanntes Gebiet darstellt, um aus einigen nach anderer Richtung hin angestellten Versuchen daraus Schlüsse für oder wider ziehen zu können.

Tabelle XXI.

Staphylococcus pyogenes aurens. Intraperitoneale Injektion. Kaninchen Nr. 90.

| Datum | | Hämolyse | Nachhämolyse | Bakteriologischer Befund | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | mikroskopisch | Agarstrich |
| 16. VI. 1903 | Serumkontrolle | — | — | | |
| 6h p. m. Anfschwemmung von Agarkultur intraperitoneal | | | | | |
| 17. VI. | 12h 05′ | — | ± ? | 0 | steril |
| 18. VI. | 12h 30′ | — | — | 0 | steril |
| 19. VI. | 6h 45′ | — | — | 0 | Staph. aur. |
| 23. VI. | 12h | — | — | | |
| nm 12h 05′ 1 Röhrch. Agarkulturaufschwemmung intraperitoneal | | | | | |
| | 4h 42′ | — | — | | |
| Sektion | 5h 54′ | — | — | | |

Am 17. VI. sehr krank. 18. VI. Zustand besser.
Am 20. VI. so munter, dafs von weiteren Entnahmen abgesehen wird.
Am 23. um 4h agonal. Tod innerhalb 6 Std. um 5h 54′. Sektion sofort.
Befund: Fibrinöse Peritonitis, Abszefsbildung in der Bauchwand. Im Abdomen ca. 3 ccm trübe Flüssigkeit.
Kultur: Leber, Bauchwandabszefs } Staph. aur. Herzblut: steril.

Tabelle XXII.

Staphylococcus pyogenes aureus. Intraperitoneale Injektion. Kaninchen Nr. 88.

| Datum | | Hämolyse | Nachhämolyse | Bakteriologischer Blutbefund | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Mikroskopisch | Agarstrich | |
| 16. VI 03 | Serumkontrolle | — | — | | | Auf die erste Injektion hin nicht sehr krank gewesen, war schon am 19. VI. wieder sehr munter. |
| 5h 55' Aufschwemmung von Agarkultur intraperitoneal | | | | | | |
| 17. VI. | 12h | — | — | 0 | steril | Auf die zweite Injektion am 23.VI. ebenfalls keine Reaktion. |
| 18. VI. | 12h | — | — | 0 | steril | |
| 19. VI. | 12h 15' | — | — | 0 | Staph.aureus | Das Tier erliegt der dritten Injektion mit grofsen Mengen von Kultur innerhalb 5 Stunden nm 5h 07'. Sektion sofort. |
| 20. VI. | 12h 15' | — | — | 0 | steril | |
| 23. VI. | 12h | | | | | Befund: In der Bauchhöhle 10 ccm hlutig seröse Flüssigkeit (Darmverletzung ausgeschlossen). Im Pleuraraum 5 ccm ebensolches Serum. |
| 2 Röhrchen 24h Agarkultur in ster. dest. Wasser intraperitoneal | | | | | | |
| 24. VI. | 11h 45' | — | ± ? | | | Kultur: |
| 25. VI. | 12h | — | — | | | Bauchexsudat, Brustexsudat, Herzblut, Leber, Milz } Staph. pyog. aureus. |
| 26. VI. | 12h 45' | — | — | | | |
| 7. VII. | 1h | — | — | | | |
| um 1h 20' 4 Röhrch. Agarkulturaufschwemmung intraperitoneal | | | | | | |
| | 4h 45' | + | Ser. purpureum | | | |
| Sektion | 5h 07' | + | Ser. purpureum | | | |

Für die Staphylokokkeninjektionen des Kaninchens hätten wir demnach hinsichtlich der Hämolyse den Grundsatz aufzustellen: Die chronische Staphylomykose mit Ausgang in multiple Abscedierung läfst uns während ihres ganzen Verlaufes und nach erfolgtem Tode eine Hämolyse in irgend einer Form nicht erkennen; die Anwesenheit von Bakterien im strömenden Blute hatte hiebei keinen hämolytischen Effekt zu bedingen vermocht.

Bei akutem Verlauf der Infektion ist jedoch Hämolyse als Hämoglobinämie und Nachhämolyse zu beobachten, gleichgültig ob die Einverleibung des Bakterienmaterials intravenös oder intraperitoneal erfolgt.

## II. Streptokokken.

Gelegentlich der zahlreichen Untersuchungen, die man über das Gift der Kettenkokken angestellt hat, wurde man auch darauf aufmerksam, dafs dieselben unter Umständen blutlösende Eigenschaften besäfsen.

Der erste, der einen solchen Befund verzeichnet, ist wohl Bordet [21], der im Jahre 1897 darauf hinweist, dafs man bei der Sektion von Kaninchen, die Streptokokkeninfektionen erlegen waren, Serum finde, welches durch Hämoglobin rot gefärbt sei. Da wir uns im folgenden mit diesem Befunde Bordets zu beschäftigen haben werden, seien seine eigenen Worte hier wiedergegeben. Er sagt: »Au moment de la mort l'examen du sang trahit des altérations manifestes des globules rouges. Ceux-ci sont presque entièrement disparu. Le coeur d'un lapin autopsié immédiatement après la mort contient un caillot, assez volumineux, rouge clair, imbibé d'un sérum où l'hémoglobine s'est largement diffusée.«

v. Lingelsheim [22] hat die Blutveränderungen bei Streptokokkeninfektionen genau studiert. Er konstatierte als sehr häufigen Befund bei Obduktionen von Tieren, die an solchen Infektionen zugrunde gegangen waren, eine lackfarbene Beschaffenheit der Blutflüssigkeit. v. Lingelsheim impfte dann mit dem

Blute solcher Tiere Röhrchen, die mit Blut derselben Tierart beschickt waren, und konnte beobachten, dafs oft schon nach 3—4 Stunden Aufenthaltes im Thermostaten das Plasma anfing sich rot zu färben, Hämoglobin also aus den roten Blutzellen ausgetreten sein mufste. v. Lingelsheim versuchte nun festzustellen, ob sich diese hämolytischen Veränderungen schon intra vitam zeigen, und ob diesem Nachweise eine besondere Bedeutung für den Krankheitsprozefs überhaupt beigemessen werden könne. Von der Ansicht ausgehend, dafs die Anwesenheit von zahlreichen Streptokokken im Blute Hand in Hand gehen werde mit der Äufserung der blutlösenden Eigenschaft, versprach sich v. Lingelsheim nicht viel für die Beurteilung des Krankheitsbildes, da ja erfahrungsgemäfs die Überschwemmung des Blutes mit Streptokokken erst spät, nach v. Lingelsheim in den allerletzten Lebensstunden, einzutreten pflegt. v. Lingelsheim bediente sich der Methode, das Blut der zu untersuchenden Tiere in eine Lösung von zitronensaurem Natron (4 Teile Blut auf 1 Teil 5proz. zitronensaures Natron und Kochsalz ana) einfliefsen zu lassen. Das auf diese Weise vor dem Gerinnen geschützte Blut wurde dann zentrifugiert. Bei dieser Methode fand v. Lingelsheim erst etwa eine Stunde vor dem Tode auf Hämolyse deutende Veränderungen, indem das Plasma rosenrot erschien. Mikroskopisch waren zu dieser Zeit zahlreiche Streptokokken im Blute nachweisbar. v. Lingelsheim mifst nun aus dem Grunde, weil ja die hämolytischen Veränderungen beim Streptokokkenkaninchen erst zu einer Zeit aufzutreten pflegen, wo das Schicksal des Tieres ohnehin »als besiegelt angesehen werden kann«, denselben für das Kaninchen keine Bedeutung bei. Beim Menschen aber sieht er in der blutschädigenden Wirkung, die gelegentlich einer Streptokokkeninfektion die Mikroorganismen ausüben können, »einen der Gründe für die schweren Anämien, die im Anschlufs an septische Erkrankungen vielfach beobachtet werden.«

v. Lingelsheim gibt seiner Vermutung Ausdruck, dafs es sich bei der blutlösenden Wirkung der Streptokokken um den Einflufs von Stoffen handle, die Absonderungsprodukte sind. Da es ihm nicht gelang, in den Filtraten von Streptokokkenkulturen

hämolytisch wirkende Stoffe nachzuweisen, auch der Zusatz abgetöteter Streptokokken zu Blut vergeblich war, hält v. Lingelsheim zum Zustandekommen der Hämolyse die Anwesenheit der lebenden Bakterien für unbedingtes Erfordernis.

Nach einigen vergeblichen Versuchen ist es Besredka [23] gelungen, ein wirksames Filtrat von Streptokokkenkulturen zu erlangen. Besredka züchtete seine Streptokokken in inaktiviertem Kaninchenserum und filtrierte nach Verdünnung mit einer 0,75proz. NaCl-Lösung durch Chamberlandfilter. Auch Schafserum, zu einem Viertel mit Hasenserum versetzt, erwies sich als eine gute Hämolysinproduktion gestattende Kulturflüssigkeit.

Wir möchten hier darauf aufmerksam machen, dafs Schlesinger [24] in seinen »Untersuchungen über das Hämolysin der Streptokokken« sagt, »Besredka fand im Gegensatz zu Aronson in den Filtraten von Streptokokkenkulturen nie Hämolysin. Er sah dies als Beweis an, dafs das Hämolysin in den Bakterien selbst enthalten sei.«

Allerdings sagt Besredka (Annales de l'Institut Pasteur Tome XV, 1901, pag. 881 et 882), den negativ ausgefallenen Versuch, durch Züchtung in Ascitesbouillon nach Marmorek wirksame Filtrate zu erhalten, besprechend: »nous avons préparé une culture en bouillon-ascite et 24 heures après quand elle a été déjà très abondante nous l'avons séparée des microbes à la bougie Chamberland dans l'espoir de découvrir dans le filtrat l'hémolysine. Or ce filtrat essayé vis-à vis de différentes espèces de globules rouges se montra aussi peu hémolytique que l'est le bouillon-ascite avant qu'il soit ensemencé.« Dem aufmerksamen Leser der Besredkaschen Arbeit wird aber kaum entgehen können, dafs nur wenige Zeilen unter obigen der Einleitung angehörenden Worten zu lesen ist: »Sans nous décourager de ce résultat négatif nous avons cherché à varier les milieux de culture; après de nombreux tâtonnements dont il sérait inutile d'entretenir le lecteur nous avons réussi à obtenir une solution d'hémolysine streptococcique, qui par l'intensité de son action ne cède presque en rien à celle de la culture entière de streptocoque vivant et virulent.«

Natürlich mufs auch gegen den zweiten Satz von Schlesinger protestiert werden. Denn ganz im Gegenteil hierzu hat ja Besredka in seinen Schlufsfolgerungen noch ausdrücklich hervorgehoben: »Dans certaines conditions bien déterminées, le streptocoque sécrète une substance de nature probablement diastasique, qui possède des propriétés hémolytiques très prononcées.« Wir mufsten wohl auf Schlesingers Bemerkung eingehen, um das Weiterschleppen einer falschen Angabe in der Literatur, wenn möglich, zu verhindern.

Lubenau [26]) teilt uns mit, dafs er durch Kultivieren von Streptokokken in einer »2% Pepton enthaltenden Extraktbouillon« wirksames Hämolysin nachweisen konnte. Es ist seiner Arbeit aus dem Zusammenhange zu entnehmen, dafs es sich um Filtrate gehandelt hat.

Aronson [27]) ist es nicht gelungen, mit Filtraten von Streptokokkenbouillonkulturen Hämolyse zu erzielen, während die Kulturen vor dem Filtrieren hämolytische Kraft besessen hatten. Meyer [28]) bestätigt die Brauchbarkeit der Methode von Besredka, mit welcher er gute Resultate erhalten hat.

Schlesinger (l. c.) beobachtete in Streptokokkenbouillonkulturen Blutlösung. Eine Arbeit von Breton [29]) steht uns leider nur im Referat zur Verfügung. Breton soll in mit Streptokokken injizierten Tieren schon 10 Stunden nach der Infektion eine Andeutung von Hämolyse konstatiert haben. Dieser Erfahrung, welche weder den Befunden von v. Lingelsheim noch den unsrigen zu entsprechen scheint, nachzugehen, ist uns leider mangels der einschlägigen französischen Literatur derzeit unmöglich gewesen.

Simon [30]) hat eingehende Untersuchungen über die Gifte der Streptokokken angestellt und ist bezüglich toxischer und hämolytischer Wirkungen der Streptokokken zu höchst interessanten Resultaten gelangt. Obwohl die Besprechung seiner Versuche über die toxinbildende Fähigkeit der Kettenkokken eigentlich nicht zu unserem Thema gehört, so können wir doch nicht umhin, uns mit denselben zu befassen, da Simon Befunde erhoben hat, die seiner Ansicht nach dafür sprechen, dafs

zwischen Toxinbildung und Lysinbildung bei Streptokokken eine gewisse Relation — allerdings in negativem Sinne — bestünde.

Der genannte Forscher hat zunächst, um zu erfahren, ob im Körper der mit Streptokokken infizierten Tiere ein gelöstes Toxin sich nachweisen lasse, Kaninchen vor der Infektion Aleuronataufschwemmungen in die Pleurahöhle injiziert, dann nach Verlauf von 6—24 Stunden eine tödliche Dosus virulenter Streptokokken nachgespritzt. Nach eingetretenem Tode wurde das Exsudat gewonnen, filtriert und gesunden Kaninchen einverleibt. Der Erfolg war verschieden; manche Tiere starben, andere erkrankten unter Gewichtsacnahme und zwei Versuche fielen negativ aus.

Diese Erfahrungen bewogen Simon, zu untersuchen, ob sich nicht die Exsudate als Kulturboden für den Streptokokkus eignen würden, ob es also gelingen würde, auf diesem Wege im Reagensglas wirksame Toxine darzustellen. Die Kultivierung wurde im Buchnerröhrchen vorgenommen, entsprechend einer Empfehlung von Manfredi und Traversa und im Sinne von Roger. Diese Methode erwies sich als brauchbar, es gelang Simon, mit den Kulturfiltraten Kaninchen zu töten. Die Sektionen dieser Tiere liefsen stets eine lackfarbene Beschaffenheit des Blutes vermissen, ebensowenig konnten blutig gefärbte Ergüsse im Pleuraserum oder Perikad konstatiert werden, während Simon bei an Streptokokkeninfektionen zugrunde gegangenen Tieren allerdings nicht immer, so doch meist blutige Exsudate in Pleuraraum und Perikard gefunden hatte.

Simon bemerkt nun bei dieser Gelegenheit, dafs er die »Hämolyse in vivo, welche nach Marmorek [45] für die Staphylokokkeninjektion pathognonomisch sein soll« bei den Tieren, welche mit lebenden Kulturen seiner drei virulenten Streptokokkenstämme getötet wurden, nur in einer sehr kleinen Minderzahl der Fälle gesehen habe. Über die bei den letztgenannten Versuchen angewendete Untersuchungsmethode, die ja, wie wir im folgenden sehen werden, äufserst wichtig ist, fehlen entsprechende Angaben, infolgedessen müssen wir uns hier kritischer Bemerkungen enthalten.

Die mit den Filtraten, welche erwiesenermafsen ein Kaninchen schädigendes Toxin enthalten hatten, angestellten Hämolyseversuche im Reagensglase fielen negativ aus. Da Simon die Schuld an diesem Ausfall einem zu geringen hämolytischen Vermögen seiner Streptokokkenstämme beimafs, suchte er durch Tierpassagen dasselbe zu steigern. Ein Stamm wurde nacheinander durch vier Tiere geschickt, indem jedes Tier direkt mit dem Herzblute seines Vorgängers geimpft wurde, ohne dafs Kulturen auf künstlichem Nährboden eingeschaltet worden waren. Tier 2, 3 und 4 zeigten bei der Sektion lackfarbenes Blut. Das fünfte Tier wurde mit einer Bouillonkultur geimpft, welche aus dem Herzblut von Tier 4 gewonnen worden war. Simon bemerkt, dafs »bei dessen Autopsie von einer Hämolyse in vivo nichts zu sehen« war.

Nach Ansicht von Simon habe die einmalige Anwendung der künstlichen Kultur die hämolytische Eigenschaft der Streptokokken verschwinden lassen, während die erhaltene Virulenz durch den Tod des Tieres zur Genüge bewiesen ist. Simon will daher die Äufserung von Marmorek eingeschränkt haben und wünscht, dieselbe solle lauten: Die Hämolyse in vivo wird bei Tieren beobachtet, welche der Infektion mit dem Blut eines Streptokokken-Tieres erliegen.

Wir kommen weiter unten auf diese Frage ausführlich zurück.

Bei den Untersuchungen Simons zeigte sich nun bezüglich der toxischen und hämolytischen Wirkung zweier Filtrate, die aus Exsudatbouillonkulturen gewonnen worden waren, eine eigentümliche Divergenz der Wirkungen. Beide Exsudatbouillonkulturen waren mit dem gleichen Streptokokkus angelegt worden. Das eine Filtrat erwies sich hämolytisch wirksam aber wenig giftig, das andere ergab ein tödlich wirkendes Filtrat, aber die hämolytische Eigenschaft fehlte gänzlich. Die Kulturen waren ungefähr gleich alt gewesen, zeigten aber eine erhebliche Differenz bezüglich ihres Wachstums. Simon konnte beobachten, dafs diejenigen Filtrate den gröfsten Toxingehalt ergeben hatten, welche aus Kulturen stammten, welche eine sichtbare Wachstumshemmung durch, wie Simon meint, die bakteriziden Stoffe

des als Nährboden verwendeten Pleuraexsudates erlitten hatten, und er konnte zeigen, dafs das toxische Vermögen seiner Filtrate abnahm, ja gänzlich verschwand, wenn die Kultur zur üppigen Entwicklung gelangte. Nach Simon also produzieren die Streptokokken nur dann Toxine, wenn sie durch die bakteriziden Säfte des Tierkörpers bis zu einem gewissen Grade in ihrem Wachstum beeinträchtigt werden. Simon ist auch, jedoch mit berechtigter Reserve, da er über zu wenig Versuche verfügt, der Ansicht, dafs andererseits, nachdem in jenen Kulturen, welche offenbar infolge einer geringen bakteriziden Energie den Streptokokken gutes Wachstum gestatteten, reichliche Hämolysinbildung zu beobachten war, Streptokokken nur dort Hämolysin erzeugen, wo sie keinen grofsen antibakteriellen Widerständen ausgesetzt sind. Mit Recht beruft er sich hierbei auf die Erfolge der Methode von Besredka, der zur Hämolysingewinnung Kulturen in inaktiviertem Kaninchenserum verwendete. Nach Simon also sind die Bedingungen, unter denen Toxin und Hämolysin der Streptokokken gebildet werden, gänzlich entgegengesetzte.

In neuester Zeit hat Kerner (31) über die Hämolyse der Streptokokken Untersuchungen angestellt. Er konnte konstatieren, dafs Bouillonkulturen hämolytisch wirkten; Filtrate von solchen zeigten keine hämolytische Wirkung, jedoch erwiesen sich Filtrate aus Kulturen in flüssigem Blutserum als blutlösend; auch hier war eine durch den Filtrationsprozefs bedingte Abnahme der hämolytischen Wirkung zu bemerken.

## Untersuchungen über Hämolyse bei mit Streptokokken infizierten Kaninchen.

Wir heben aus 14 Versuchen, die uns über die Hämolyse bei infizierten Kaninchen orientiert haben, vier Versuche heraus. Vor allem wäre aber zu bemerken, dafs von einer »Hämolyse in vivo« bei der Streptokokkeninjektion insofern nicht die Rede sein kann, als man die Beurteilung der sofort nach der Entnahme zentrifugierten Probe in Betracht zieht. Aber auch diejenigen Proben, welche unmittelbar nach dem Tode entnommen und sofort untersucht worden waren, liefsen eine Hämolyse

(Hämoglobinämie) in keinem Falle erkennen. Zieht man jedoch die Konstatierung der Nachhämolyse als verfeinerten Nachweis heran, so sehen wir in allen Versuchen eine erfolgte Schädigung der Erythrocyten deutlich ausgesprochen.

Die Frage nach der »Hämolyse in vivo« oder der bei sofortiger Sektion (Bordet) gesehenen Blutlösung ist nicht ohne Interesse, schon deshalb, weil wir, wie oben bereits angeführt, Marmorek behauptet, erstere sei für die Streptokokkeninfektion charakteristisch. Er sagt: »Seit Beginn unserer Versuche über die Virulenzsteigerung des Streptokokkus haben wir konstatiert, dafs das Blut von Kaninchen, welche uns zur Tierpassage dienen, sich noch im Körper löst und eine klare durchsichtige Burgunderfarbe annimmt. Diese Eigenschaft, die roten Blutkörperchen in den Gefäfsen selbst aufzulösen, ist nicht blofs eine Fähigkeit, welche den Streptokokken allein zukommt, sondern — und dies steigert ganz besonders den Wert dieses unterscheidenden Merkmales — sie wächst im geraden Verhältnis mit der Virulenz. Je virulenter ein Streptokokkus ist, um so rascher und besser löst er das Blut im Körper seines Wirtes.«

Wir haben da in erster Linie zu konstatieren, dafs vor unseren Untersuchungen die Methode auch die Nachhämolyse zur Beurteilung des Verhaltens des Blutes infizierter Tiere zu verwenden wohl nicht eingeführt gewesen ist, und dafs nur mit Hilfe dieser Methodik auf eine eventuelle Schädigung »in vivo« geschlossen werden kann, alle aber bei Streptokokkeninjektionen dem lebenden Tiere oder dem eben verendeten sofort entnommenen und untersuchten Proben ergaben uns ausnahmslos das Fehlen einer Hämolyse. Das Verstreichenlassen aber einer relativ geringen Zeit zwischen Tod und Zentrifugieren der sofort nach dem Tode entnommenen Proben genügte, um wesentlich andere Resultate sehen zu lassen. Das 12 Minuten vor dem Tode entnommene Blut zeigte bei Kaninchen Nr. 81 Tabelle XXVI farbloses Serum, das Serum des Sektionsblutes war gleichfalls ohne Färbung, eine 3 Stunden später untersuchte Blutprobe zeigte bereits purpurrotes Serum! Ja in einem zweiten Falle, wo wir die Sektion nur wenig mehr als 30 Minuten nach dem

Exitus vornahmen, zeigte das Serum bereits einen starken Stich ins Rötliche.

Dies wäre also als Nachhämolyse, nicht als Hämolyse »in vivo« als Hämoglobinämie zu deuten. Diese konnten wir niemals bei der Streptokokkeninfektion beobachten, eine Schädigung der roten Blutzellen im Verlaufe der Infektion ist jedoch sicher und als NH in unseren Protokollen ausgewiesen.

Nicht nur der Angabe Marmoreks bezüglich der Hämolyse in vivo begegnen unsere Zweifel, auch bezüglich des Zusammenhanges, den er zwischen Virulenz und Hämolyse konstruiert hat, haben wir schwere Bedenken. Wie stimmt denn diese Wechselbeziehung mit dem Versuche Simons (l. c.), der in fünfter Passage durch das Kaninchen von einer Hämolyse »in vivo« bei der Sektion nichts bemerken konnte und wie stimmen seine Angaben zu unseren Versuchsprotokollen?

Bezüglich der Hämolyse als Obduktionsbefund haben wir genau zu unterscheiden, ob die Sektion unmittelbar nach erfolgtem Tode vorgenommen wird oder nicht. In ersterem Falle finden wir das Serum ungefärbt, in letzterem ausnahmslos eine deutliche, jedoch je nach der verstrichenen Zeit mehr oder minder intensive Blutlösung eingetreten.

Tabelle XXIII.

Verhalten des Blutes von Streptokokken-Kaninchen je nach der Zeit der Sektion.

| Nr. | Sektion nach dem Tode | Hämolyse |
|---|---|---|
| 77 | Sofort | — |
| 79 | » | — |
| 80 | » | — |
| 81 | » | — |
| 16 | 30—40 Minuten | + |
| 78 | 1 ½ Stunden | + |
| 44 | 5 Stunden | + |
| 22 | 7 Stunden | + |

Auf diese Blutlösung als Sektionsbefund hat ja, wie schon oben erwähnt, seinerzeit Bordet aufmerksam gemacht, nur befremdet uns die zitierte Bemerkung des französischen Forschers

»autopsié immédiatement«, da wir, wie gesagt, in allen unseren Fällen, wo wir den Eintritt des Todes ad hoc abgewartet und die Sektion sofort vorgenommen hatten, niemals eine Hämolyse (Hämoglobinämie) konstatieren konnten. Vielleicht dürfen wir das »immédiatement« nicht ganz wörtlich nehmen und soll damit nur gemeint sein, dafs die Sektion sehr bald nach dem Tode vorgenommen wurde. Dafür spricht auch der Umstand, dafs Bordet selbst sagt »le coeur . . . contient un caillot assez volumineux.« Wir haben unmittelbar nach dem Tode das Blut stets flüssig gefunden.

Dafs eine Verzögerung von 30—40 Minuten schon genügt, um eine Nachhämolyse beobachten zu können, haben wir ja oben gezeigt, und dafs es nötig ist, einen so scharfen Unterschied zwischen Hämoglobinämie und Nachhämolyse zu machen, ist ja erst ein Resultat der vorliegenden Untersuchungen. Auch auf die Arbeit von v. Lingelsheim wäre noch einmal zurückzukommen. v. Lingelsheim hat ja angegeben, dafs das in den letzten Lebensstunden der Streptokokkentiere in 5 proz. Lösung von zitronensaurem Natron und Kochsalz ana aufgefangene Blut Hämolyse gezeigt habe.

Gegen diese Befunde läfst sich vor allem einwenden, dafs die Flüssigkeit, in der sich die ja zweifellos schon geschädigten roten Blutzellen befanden, den Bedingungen der Isotonie nicht entsprach.

Es wurden 4 Teile Blut mit 1 Teil der Mischung versetzt, was eine Kochsalzkonzentration von 1% plus einer solchen von 1% zitronensaurem Natron entspricht. Nun ist ja bekanntlich die isotonische Kochsalzlösung für Kaninchenblut 0,85% und wir wissen, dafs geschädigte Erythrocyten auch nur geringe Schwankungen des isotonischen Gleichgewichtes mit Hämoglobinaustritt beantworten; es summiert sich hier zudem noch die hyperisotonische Kochsalzkonzentration mit der Konzentration des zitronensauren Natrons. Es dürfte also unserer Meinung nach die Erklärung für die intra vitam beobachtete Lösung der roten Blutzellen in den Versuchen von v. Lingelsheim lediglich in der ungeeigneten Untersuchungsmethodik zu suchen sein.

Wenn wir die in den folgenden Tabellen niedergelegten Resultate betrachten, so können wir in dreien der Versuche parallel gehend mit dem positiven bakteriologischen Nachweise der Bakterien eine Schädigung des Blutes, Nachhämolyse, beobachten. Es könnte uns diese Konstatierung zu dem Schlusse verleiten, dafs die Hämolyse uubedingt abhängig sei von dem Auftreten der Bakterien im Blute. Dafs dies nicht zutreffen mufs, zeigt uns Tabelle XXV Kaninchen Nr. 80. Hier konnten wir am Tage nach der Infektion Bakterien im Blute mikroskopisch nachweisen, letzteres wohl ein Zeichen, dafs sie in grofser Anzahl kreisen mochten, aber eine Nachhämolyse ist zu dieser Zeit nicht zu konstatieren. Noch am zweiten Tage nach der Infektion kreisen Streptokokken, wie der kulturelle Nachweis ergibt; auch diesmal finden wir weder Hämoglobinämie noch Nachhämolyse. Ungefähr 9 Stunden später bleibt die Kultur steril und die Untersuchung auf Hämolyse wie Nachhämolyse fällt negativ aus. Vier Stunden vor dem Tode ist die Zahl der Bakterien im Blute noch eine keineswegs sehr grofse, denn der mikroskopische Nachweis ist nicht gelungen, die Kultur hingegen positiv; gleichzeitig tritt Nachhämolyse in Erscheinung. Die sofort nach dem Tode vorgenommene Sektion zeigt keine Hämoglobinämie, jedoch Nachhämolyse.

Diese Befunde bestätigen durchaus die Ansicht von v. Lingelsheim, dafs die Hämolyse erst eine Erscheinung der letzten Lebensstunden des ohnedies dem Tode geweihten Tieres sei, aber sie scheinen uns auch die Möglichkeit zu bieten, die betreffs der Reagensglasversuche geäufserte Ansicht von Simon, dafs die Streptokokken nur dann imstande seien, ein Hämolysin zu bilden, wenn sie gute Wachstumsbedingungen finden, auf den Tierversuch zu übertragen. Die bakteriziden Kräfte des Tieres kämpften gegen die Streptokokkeninvasion, die produzierten Toxine der Bakterien neutralisieren gleichsam nach und nach die Widerstandsfähigkeit und siegen im Kampfe. Jetzt kann eine Vermehrung der Streptokokken ungehindert erfolgen, und da die Säfte des Tierkörpers nun einen guten Nährboden für die Bakterien darstellen, sind im Sinne von Simon

günstige Bedingungen für die Lysinproduktion geschaffen. Zur Zeit, als wir in Tabelle XXV bei Kaninchen 80 Streptokokken im Blute nachwiesen, ohne dafs es zur Nachhämolyse kam, könnte vielleicht das Blut noch widerstandsfähig genug gewesen sein, es bot noch keinen guten Nährboden dar. In der Tat verschwinden auch die Streptokokken wieder aus der Blutbahn. Die Toxine belagern und schwächen den Organismus weiter, seine Bakterizidie ist vielleicht überwunden, nun treten die Streptokokken neuerdings im Blute auf und diesmal kommt es — wenige Stunden vor dem Tode — zur Schädigung der Erythrocyten.

In Tabelle XXVI bei Kaninchen Nr. 81 haben wir durch Verwendung gröfserer Mengen von Bouillonkultur gleichzeitig gröfsere Mengen von Toxin mit einverleibt und so vielleicht den Verlauf des ganzen Prozesses beschleunigt.

Dafs aber bei Einverleibung von Agarkultur — abgesehen von der Verlaufsdauer — ein Unterschied hinsichtlich der Hämolyse gegenüber den Injektionen mit Bouillonkulturen nicht zu bemerken ist, zeigt Nr. 82 in Tabelle XXVII. Hier verläuft die Injektion langsamer, weil sich die Bakterien wohl erst ihren Boden durch Toxinbildung im Körper erkämpfen müssen, während ihnen im vorigen Falle die Einbringung schon präformierten Toxines die Arbeit erleichtert hatte.

Tabelle XXIV.

Streptococcus pyogenes. Kaninchen 77. Intraperitoneale Injektion von 2 ccm Bouillonkultur. Tod nach 46 Stunden.

| Datum | Zeit der Entnahme | Hämolyse | Nachhämolyse | Bakteriologischer Befund | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | mikroskopisch | Agarstrich | |
| 25. V. 1903 6h 30' p.m. | Kontrolle Infektion | — | — | | | Exitus am 27. V. um 4h 35'. Sektion sofort. |
| | 7h | — | — | | | |
| | 7h 30' | — | — | | | Befund: Mikroskopisch in Herzblut und Milz vereinzelte, in der Leber zahlreiche Diplokokken. Kultur aus Herzblut, Leber und Milz Streptokokken. |
| 26. V. | 10h | — | — | | | |
| | 11h | — | — | | | |
| | 4h 30' | — | — | | | |
| 27. V. | 11h 15' | — | + | 0 | Streptokokken | |
| | Sektion | — | + | + | — | |

Tabelle XXV.

**Streptococcus pyogenes. Kaninchen 80. Intraperitoneale Injektion von 2 ccm Bonillonkultur. Tod nach ca. 4 Tagen.**

| Datum | Zeit der Entnahme | Hämolyse | Nachhämolyse | Bakteriologischer Befund | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | mikroskopisch | Agarstrich | |
| 27.V.1903 6h p. m. | Kontrolle Infektion | — | — | | | Exitus am 31.V. um 3h 28′ Sektion sofort. Mikroskopisch in Herzblut, Milz und Leber spärliche Kokken, in der Kultur aus Herzblut, Milz u. Leber Streptokokken. |
| 28. V. | 12h 30′ | — | — | Diplokokken | Kultur nicht angelegt | |
| 29. V. | 10h 40′ | — | — | 0 | Streptokokken | |
| 30. V. | 8h p. m. | — | — | 0 | steril | |
| 31. V. | 11h 30′ | — | + | 0 | Streptokokken | |
| | Sektion | — | + | + | + | |

Tabelle XXVI.

**Streptococcus pyogenes. Kaninchen Nr. 81. Intraperitoneale Injektion von 20 ccm Bonillonkultur. Tod nach 25 Stunden.**

| Datum | Zeit der Entnahme | Hämolyse | Nachhämolyse | Bakteriologischer Befund | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | mikroskopisch | Agarstrich | |
| 27. V. 03 6h | Kontrolle Infektion | — | — | | | Exitus am 28.V um 7h 32′ p. m. Sektion sofort. Peritonitis. Im Bauchraum zirka 5 ccm nicht blutiges Exsudat. Eine 3 Std. nach der Entnahme zentrifugierte Probe zeigt bereits purpurrotes Serum. |
| 28. V. | 12h | — | + | zahlreich. Kokken | Streptokokken | |
| | 7h 20′ | — | + | do. | do. | |
| | Sektion | — | + | + | + | |

Tabelle XXVII.

Streptococcus pyogenes. Kaninchen 82. Intraperitoneale Injektion von 1 Röhrchen 24stündiger Agarkultur. Tod innerhalb 57—69 Stunden.

| Datum | Zeit der Entnahme | Hämolyse | Nachhämolyse | Bakteriologischer Befund | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | mikroskopisch | Agarstrich | |
| 1. VI. 1903 10h 55' | Kontrolle Infektion | — | — | | | Lebt am 3. VI. 8h 25' p.m., wird am 4. VI. Früh tot gefund. Sektion 11h 30'. |
| 2. VI. | 11h 30' | — | — | 0 | steril | |
| 3. VI. | 12h 45' | — | + | 0 | Streptokokken | Im Herzblut wenig, in der Milz und Leber massenhaft viel Kokken. Kultur aus Herzblut, Leber u. Milz ergibt Streptokokken. |
| 4. VI. | Sektion | + | + | + | + | |

Bei den Streptokokkeninfektionen des Kaninchens zeigt sich eine Schädigung der Erythrocyten lediglich in Form einer Nachhämolyse, eine Hämoglobinämie ist nicht zu beobachten! Der von **Marmorek** ausgesprochene Grundsatz betreffs der in vivo vor sich gehenden Auflösung des Kaninchenblutes besitzt keine allgemeine Gültigkeit, er ist auch in der von **Simon** gewünschten Modifikation nicht haltbar. Bei Kaninchen, welche einige Zeit nach dem Tode zur Sektion gelangen, ist ausnahmslos Hämolyse zu beobachten gewesen. Ob im Sinne der Reagensglasversuche Simons eine Relation zwischen Hämolysinproduktion und erloschener oder herabgesetzter Bakterieidie auch im Tierkörper besteht, scheint durch vorliegende Untersuchungen nicht ausgeschlossen, doch mufs eine Klärung dieser Frage von ausgedehnten, zu diesem Zwecke angestellten Versuchen abhängig gemacht werden.

### III. Milzbrand.

An Versuchen, das Gift des Milzbrandbazillus etwa in Analogie zum Diphtherie- oder Tetanustoxin aufzufinden, fehlt es nicht. Zahlreiche Untersucher sind bemüht gewesen, durch

mannigfache Variationen der Versuchs- und Kulturbedingungen den Beweis zu erbringen, dafs auch der Milzbrandbazillus ein eigentliches Toxin besitze. Nachprüfungen aber haben Beobachtungen, die von einem Milzbrandtoxin berichten, nicht Stand halten können und wir stehen noch heute auf dem Standpunkte, dafs ein echtes Milzbrandtoxin nicht nachgewiesen erscheint. Aus der umfangreichen Literatur sei hier nur die schöne Arbeit von Conradi [32] zitiert, deren Einleitung uns einen historischen Überblick über die Frage des Milzbrandtoxines in erschöpfender Weise bietet. Auch Conradi ist zu dem Resultate gekommen, dafs der Anthraxbazillus ein extrazelluläres lösliches oder ein intrazelluläres Gift im Organismus empfänglicher oder refraktärer Tiere nicht bilde. Er ist ferner der Ansicht, dafs grofse Wahrscheinlichkeit bestehe, dafs der Milzbrand überhaupt keine giftigen Substanzen im Tierkörper erzeuge, und dafs die Hypothese von der Existenz eines Milzbrandgiftes zurückzuweisen sein werde.

Wir haben, als wir unsere Untersuchungen bei injizierten Tieren auch auf die Milzbrandinfektion des Kaninchens ausdehnten, einen überraschenden Befund zu verzeichnen gehabt, der geeignet sein dürfte, die Frage nach der Existenz des Milzbrandtoxines nicht ruhen zu lassen.

Es war in unserer Untersuchungsmethode begründet, zu trachten nicht nur von einem und demselben Versuchstiere möglichst zahlreiche Blutproben untersuchen zu können, sondern auch Proben zu erhalten, die möglichst kurz vor dem Tode entnommen waren. Wir haben ja bei der Besprechung der Streptokokkeninfektionen ganz im Sinne von v. Lingelsheim zeigen können, dafs erst gegen das Lebensende des Tieres zu Veränderungen des Blutes vor sich gehen, welche uns meist als Nachhämolyse erkennbar wurden.

Es ist nun nicht leicht, bei der Milzbrandinjektion beiden Postulaten gerecht zu werden, da wir gerade hier keinerlei Anhaltspunkte dafür besitzen, ob der Tod voraussichtlich in längerer oder kürzerer Zeit eintreten werde. Die individuelle Resistenz der Kaninchen schwankt ja bezüglich des Todes auch bei gut ausprobierten Milzbrandstämmen immerhin um mehrere Stunden

und aus dem Wohlbefinden der Tiere läfst sich durchaus kein Schlufs ziehen, da in den meisten Fällen das Tier noch einen vollständig gesunden Eindruck macht, im nächsten Momente aber schon unter starken Zuckungen apoplektiform zugrunde gehen kann. Die erwähnten Schwankungen, welche in unseren Versuchen zwischen 26 Stunden 45 Min. (frühester Tod) und 49 Stunden 45 Min. (spätester Tod) pendelten, also einen Zeitraum von 23 Stunden beherrschten, liefern den Experimentator mehr minder dem Zufalle aus und nur eine grofse Reihe von Versuchen ermöglichte es uns schliefslich, zu gut verwertbaren Resultaten zu gelangen.

Gleich der erste Versuch brachte uns prinzipiell die wichtigste Orientierung. Das eben vor unseren Augen plötzlich verendete Tier wurde sofort geöffnet, aus dem Herzen rasch eine Blutentnahme gemacht, zentrifugiert und wir fanden das Serum purpurrot gefärbt.

Zahlreiche andere Versuche haben dieses Resultat bestätigt, wir hatten unter 24 Experimenten 8 mal Gelegenheit, die Sektion unmittelbar nach dem Tode vorzunehmen und konnten immer eine Hämolyse konstatieren. Da zwischen Tod und Blutentnahme gewifs nur ein Zeitraum von höchstens 5 Minuten verstrichen war, so werden wir wohl nicht fehlgehen, anzunehmen, dafs diese hier konstatierte Hämolyse als Hämoglobinämie aufzufassen sein wird.

Diesen Befund bei der Milzbrandinjektion des Kaninchens haben wir seinerzeit in einer vorläufigen Mitteilung ([51]) beschrieben und gelegentlich der Naturforscherversammlung in Kassel ([52]) besprochen. Wir glauben, dafs er geeignet sein dürfte, etwas Licht über die Art und Weise der Giftwirkung bei der Milzbrandinjektion zu verbreiten.

Wir sehen, wie gesagt, beim Milzbrandtode des Kaninchens das Blutserum meist purpurrot verfärbt, nur in einem Falle war eine braune Farbe an Stelle der purpurroten getreten. Aus der Literatur wie aus eigenen Versuchen ist uns bekannt, dafs gewifse Mikroorganismen die Eigenschaft besitzen, in vitro unter geeigneten Bedingungen Stoffwechselprodukte zu bilden, welche hämolytisches Vermögen gegen die Erythrocyten der verschiedensten

Tiere sowie des Menschen besitzen. Viele dieser Mikroorganismen, aber durchaus nicht alle, sind Infektionserreger. Wir haben in dieser Arbeit am Staphylolysin gezeigt, dafs dasselbe — in vitro präformiert — Kaninchen in die Blutbahn eingespritzt, eine Auflösung der roten Blutzellen zu bewerkstelligen imstande ist, welche sich entweder als Hämoglobinämie oder als Nachhämolyse dokumentiert. Wir konnten bei der Infektion mit Staphylokokken ganz ähnliche Verhältnisse darlegen.

Wenn wir nun beobachten, dafs mitunter bei Infektionskrankheiten, welche durch in vitro hämolysinbildende Erreger verursacht werden, eine Lösung der Erythrocyten auch im Tierkörper stattfindet, so liegt der Schlufs ja nicht weit, anzunehmen, dafs es sich bei der Milzbrandinfektion vielleicht um den Effekt einer innerhalb des Tierkörpers erfolgten Lysinproduktion von seiten der Milzbrandbakterien handeln könne. Ob dieser Schlufs noch durch den Nachweis einer hämolytischen Substanz in Milzbrandkulturen gestützt wird oder nicht, ist vorläufig ja nicht von Belang, denn es erscheint plausibel, dafs Bakterien im komplizierten Tierkörper Stoffe bilden können, zu deren Aufbau in vitro die Bedingungen vielleicht nicht günstig sind. So annehmbar nun auch diese theoretische Erwägung scheint, so schwierig, vielleicht unmöglich wird es sein, den direkten Nachweis des Lysins im Tierkörper zu führen; er wird nur zu erbringen sein, indem wir die beobachtete Hämolyse als solche gelten lassen. Denn wie wir schon eingangs auseinandersetzten, mufs nach der Ehrlichschen Theorie eine Bindung des Lysins durch die Zelle des Tierkörpers (Erythrocyt) erfolgen und solange wir keine Methode besitzen, um den direkten chemischen Nachweis dieser erfolgten Bindung führen zu können, wird nur die Hämolyse als Folge der Verankerung das einzige Kriterium im Tierversuch bleiben müssen.

Ebenso wie wir also das Staphylolysin für die Schädigung der Erythrocyten bei den Staphylokokkeninfektionen verantwortlich machen können, so ist es wohl auch erlaubt, hypothetisch anzunehmen, dafs der Milzbrandbazillus im Tierkörper ein Lysin, das Anthracolysin bilde, dieses an die Erythrocyten verankert werde und in letzter Folge dann deren Auflösung bedinge und

damit vielleicht auch am Tode des Tieres Anteil habe. Unsere Bemühungen, festzustellen, ob eine Hämolyse schon einige Zeit vor dem Tode aufzutreten pflege, haben mit Ausnahme eines klinisch ganz atypisch verlaufenen Falles (Tabelle XXIX, Nr. 47) gezeigt, dafs bei Entnahmen, welche 1 Stunde 25 Min., 1 Stunde 45 Min. und 2 Stunden 22 Min. vor dem Tode gemacht worden waren (Tabelle XXVIII, Nr. 1, 3, 68), Hämoglobinämie nicht zu konstatieren war, dafs wir aber zu verschiedenen Zeiten in der Lage waren, durch Verwertung der Nachhämolyse den Schlufs auf eingetretene Schädigung der Erythrocyten zu ziehen. Die oben dargelegten Schwierigkeiten verhinderten es, die zwischen letzter Entnahme und Tod verstrichene Zeit unter 1 Stunde 25 Min. herabzudrücken; dafs aber schon 1 Stunde 30 Min. und 2 Stunden 22 Min. vor dem Tode Blutkörperchen geschädigt sind, zeigt uns die Nachhämolyse bei Nr. 68 und 74.

Also auch bei der Milzbrandinfektion tritt die Schädigung der roten Blutzellen spät in Erscheinung, erst in den letzten Stunden vor dem Tode; es besteht da, wie schon oben angedeutet, eine gewifse Ähnlichkeit mit den von v. Lingelsheim für die Streptokokkeninfektion gemachten Beobachtungen. Aber während ja für die Streptokokken Gifte, die mit der Lysinwirkung sicher nichts zu tun haben, beschrieben sind, so fehlen uns beim Milzbrande derartige einwandsfreie Beobachtungen gänzlich.

Sclavo berichtet in neuester Zeit über Lähmungen. Er [33] hat Kaninchen mit einem vom Schafe stammenden Milzbrandserum geimpft, um passive Immunität gegen Milzbrand zu erreichen. Die Injektion des Serums wurde intravenös vorgenommen, gleichzeitig das Tier subkutan mit Milzbrandbazillen injiziert. Bei diesem Verfahren nun beobachtete Sclavo in 9 von 352 Fällen das Auftreten von sensiblen und motorischen Lähmungen an den hinteren Extremitäten mit Ausgang in Tod. Die Lähmungen traten meist ziemlich spät, 16 bis 31 Tage nach der Impfung auf. Sclavo meint, dafs durch die Einverleibungen des Serums seine Kaninchen einen gewissen Schutz gegen die Milzbrandinfektion erlangt hätten, welcher es verhinderte, dafs sie in gewöhnlicher Weise akut zugrunde gingen, während die nun

gegebene längere Frist eine Erzeugung des lähmenden Giftes gestatte.

Es scheint in der Tat ab und zu allerdings sehr selten und wohl nur in jenen Fällen, welche klinisch atypisch verlaufen, also solchen, bei denen eine längere Agonie dem Tode vorangeht, zu nervösen Erscheinungen kommen zu können.

Wir sahen unter den Fällen, bei denen wir zur Zeit des Exitus zugegen waren, zweimal einen abnormalen Verlauf der Milzbrandinfektion. In dem einen Falle insofern, als der Tod nicht plötzlich sondern erst nach einem deutlich ausgeprägten längeren agonalen Stadium eintrat, während der zweite Fall mit Lähmungserscheinungen einherging. Da es sich hier durchaus um »neue« Tiere handelte, von denen mit Sicherheit auszuschliefsen war, dafs sie etwa schon einmal im Versuch gestanden hätten, so gewinnt die Beobachtung der nervösen Symptome im zweiten atypischen Falle vielleicht auch noch den Charakter des Einwandes gegen die Auffassung von Sclavo, nachdem ja unsere Tiere keineswegs immunisiert worden waren, sondern der ersten Infektion erlagen. Es müssen da wohl uns noch gänzlich unbekannte Vorgänge im Spiele sein.

Hinsichtlich der Hämolyse boten beide Tiere interessante Befunde. Wir haben ja schon oben konstatiert, dafs bei normalem Verlaufe der Milzbrandinfektion des Kaninchens zirka $2^1/_2$ Stunden vor dem Tode eine Veränderung des Blutes niemals nachzuweisen war, dafs das Tier plötzlich zugrunde geht, ohne vorher wesentliche Krankheitserscheinungen dargeboten zu haben, sowie dafs wir bei der sofort vorgenommenen Sektion in typischen Fällen purpurrotes Serum vorfinden.

Anders verhielten sich die erwähnten Ausnahmen.

Nr. 67 (Tab. XXIX) zeigte schon zirka 3 Stunden vor dem Tode Hämoglobinämie, während sonst ja Schädigungen der Blutkörperchen vor dem Tode immer nur durch Konstatierung der Nachhämolyse zu erkennen waren, und zudem war noch auffallend, dafs dem Tode ein immerhin eine Zeitlang dauernder Somnolenzzustand vorausging. Bei der Sektion zeigte das Serum

nicht den gewohnten purpurroten Farbenton, sondern eine gelbbraune Färbung.

Nicht minder interessant gestaltete sich der Verlauf bei Nr. 47, Tabelle XXIX. Hier begannen ungefähr 33 Stunden nach erfolgter Infektion nervöse Symptome aufzutreten. Das Tier sitzt zunächst mit gespreizten Vorderläufen da, beim Gehen gleiten dieselben nach rechts und links aus. Dann stellen sich Ruderbewegungen ein; die Vorderläufe sind nun bei eingetretener Ruhe senkrecht vom Leibe abgestreckt, die Hinterläufe angezogen. Später nimmt das Tier eine Stellung ein, die der eines sitzenden Frosches in der Haltung der Hinterläufe ähnelt, während die vorderen Extremitäten starr und senkrecht zur Längsachse des Körpers abgestreckt seitlich verharren. Nun verfällt das Tier zusehends, wird so schwach, dafs es auf der Seite liegend verharrt und wird dann, da ein Ende des agonalen Zustandes nicht abzusehen war, getötet. Dieser Fall ist uns leider im Anfange unserer Versuche zur Beobachtung gekommen, zu einer Zeit also, wo wir den Wert der Nachhämolyse noch nicht schätzen gelernt hatten. Später ist uns ein ähnlicher Fall nicht mehr vorgekommen. Das eben erwähnte Tier zeigte bei künstlicher Beleuchtung schwach rosenrotes Serum, das dann bei Tageslicht betrachtet, gelb aussah. Bakterien im Blute wurden sehr frühzeitig nachgewiesen, kulturell schon $16\frac{1}{2}$ Stunden, mikroskopisch (5—7 pro Gesichtsfeld) 6 Stunden vor der Tötung.

Wenn wir aber etwa glaubten, zwischen dem Auftreten der Bakterien im Blute und der Schädigung der Erythrocyten ätiologische Schlüsse ziehen zu dürfen, wird ein Blick in Tab. XXVIII uns überzeugen, dafs wir im Irrtume uns befänden. Bei Nr. 74 sind 10 Stunden vor dem Tode Bakterien im Blute beobachtet, ohne dafs es zur Hämoglobinämie oder Nachhämolyse zu dieser Zeit und in den nächsten Stunden gekommen wäre. Erst 1 Uhr 30 Min. vor dem Tode sehen wir Nachhämolyse auftreten. Erst jetzt können wir die Bakterien nicht nur kulturell wie vorher, sondern auch mikroskopisch feststellen, also als in gröfserer Anzahl auftretend, konstatieren. Wollten wir nun beweisen, dafs offenbar eine gröfsere Menge von Bakterien im Blute (mikro-

skopischer Nachweis) erst eine Alteration der Erythrozyten im Gefolge habe, so könnten wir uns an Nr. 68 und 74 halten, aber Nr. 63 würde uns sofort einsehen lassen, dafs die Richtigkeit dieser Annahme nicht aufrecht zu erhalten wäre.

(Siehe Tabelle XXVIII und XXIX auf S. 250, 251 und 252.)

Wir möchten darauf hinweisen, dafs vielleicht auch bei der Milzbrandinfektion erst nach erfolgter Aufserkraftsetzung des leukozytären Apparates (Knochenmark) nach überwundener Bakterizidie eine Lysinproduktion stattfinde. Dafür scheint uns sehr der Umstand zu sprechen, dafs wir die Schädigung der roten Blutzellen erst in den letzten Stunden nachweisen können. Für die Erklärung der tödlichen Wirkung kann man einmal die Möglichkeit heranziehen, dafs durch die Lysinbindung die betroffenen Erythrozyten für die Respiration unbrauchbar geworden sein können; aber auch noch ein zweiter Punkt verdient Berücksichtigung.

Bei Vergiftungen mit Blutkörperchengiften findet man neben der Auflösung der Erythrozyten meist, wie Kionka [34] meint, vielleicht als Folgeerscheinung, die Gerinnungsfähigkeit des Blutes gesteigert, so dafs es zu Gerinnungen im strömenden Blute kommen kann. Dafs dann Embolien wichtiger Zentren auch bei der Milzbrandinfektion eine Rolle spielen können, liegt auf der Hand.

Bei der Milzbrandinfektion des Kaninchens finden wir zur Zeit des Todes eine intensive Hämoglobinämie. Eine Schädigung der Erythrozyten läfst sich schon einige Zeit vor dem Tode als Nachhämolyse erkennen, doch ist die Alteration der roten Blutzellen im allgemeinen erst ein Effekt der letzten Lebensstunden.

## Erzeugt der Milzbrandbazillus in künstlichem Nährboden ein Hämolysin?

Die Beantwortung dieser Frage mufste sich logischerweise unseren im vorigen Kapitel dargestellten Untersuchungen anreihen. Die Literatur versagt bei dieser Frage. Nur bei Sobernheim [35] finden wir eine kurze Bemerkung bezüglich

Tabelle XXVIII.

Typisch verlaufene Milzbrandinfektionen.

| Nummer | Kaninchen | Es sind seit der Infektion verstrichen Stunden | Vor dem Tode Stunden | Nachweis von Bakterien im Blute: mikroskopisch | Nachweis von Bakterien im Blute: kulturell | Hämolyse | Nachhämolyse | Tod Stunden nach der Infektion | Zwischen Tod und Sektion sind verflossen Stunden | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Bouillonkultur Anthrax S* intraperitoneal | 1 | | | | — | | 29,45 | Sektion sofort | |
| | | 2 | | | | — | | | | |
| | | 6 | | | | — | | | | |
| | | 23 | | | | — | | | | |
| | | 28 | 1,45 | | | — | | | | |
| | | Sektion | | + | + | Serum purpurrot | | | | |
| 3 | Bouillonkultur Anthrax 2 intraperitoneal | 2 | | | | — | | 26,45 | Sektion sofort | |
| | | 19 | | | | — | | | | |
| | | 25,20 | 1,25 | | | — | | | | |
| | | Sektion | | + | + | Serum purpurrot | | | | |
| 62 | Agarkultur Anthrax 48 intraperitoneal | normal | | | | — | — | 47,30 | Sektion sofort | Keine Hämoglobinurie |
| | | 24 | 23,30 | — | 18 Kolonien | — | — | | | |
| | | 26 | 21,30 | | | — | — | | | |
| | | 40,45 | 6,45 | — | 7 Kolonien | — | — | | | |
| | | Sektion | | + | + | Serum purpurrot | *) | | | |
| 63 | Agarkultur Anthrax 48 intraperitoneal | normal | | | | — | — | unbekannt | nicht mehr als 16 | Keine Hämoglobinurie |
| | | 24,45 | | — | 5 Kolonien | — | — | | | |
| | | 42,30 | | + | voll bewachsener Strich | — | — | | | |
| | | 46,15 | | + | do. | — | — | | | |
| | | 48,15 | | + | | — | — | | | |
| | | Sektion | | + | + | Serum purpurrot | *) | | | |

| Nummer | Kaninchen | Es sind seit der Infektion verstrichen Stunden | Vor dem Tode Stunden | Nachweis von Bakterien im Blute | | Hämolyse | Nachhämolyse | Tod Stunden nach der Infektion | Zwischen Tod und Sektion sind verflossen Stunden | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | mikroskopisch | kulturell | | | | | |
| 68 | Agarkultur Anthrax 40 subkutan | normal | . | . | . | — | — | 49,02 | Sektion sofort | Keine Hämoglobinurie |
| | | 6,10 | 40,30 | — | — | — | — | | | |
| | | 23,40 | 25,22 | — | — | — | — | | | |
| | | 31 | 18,02 | — | — | — | — | | | |
| | | 46,40 | 2,22 | + | stark bewachsener Strich | — | + | | | |
| | | Sektion | . | + | + | Serum purpurrot | *) | | | |
| 74 | Agarkultur Anthrax 73 intraperitoneal | 13 | 36,45 | — | — | — | — | 49,45 | 30 Min. | Keine Hämoglobinurie |
| | | 15 | 34,45 | — | — | — | — | | | |
| | | 18,30 | 31,15 | — | — | — | — | | | |
| | | 19,45 | 30 | — | — | — | — | | | |
| | | 21,45 | 28 | — | — | — | — | | | |
| | | 23,45 | 26 | — | — | — | — | | | |
| | | 26,45 | 23 | — | — | — | — | | | |
| | | 38,15 | 11,30 | — | — | — | — | | | |
| | | 39,45 | 10 | — | 2 Kolonien | — | — | | | |
| | | 41,45 | 8 | — | 3 Kolonien | — | — | | | |
| | | 44,15 | 5,30 | — | 18—20 Kol. | — | — | | | |
| | | 45,45 | 4 | — | 30—40 Kol. | — | — | | | |
| | | 48,15 | 1,30 | + | voll bewachsener Strich | — | Serum purpurrot | | | |
| | | Sektion | | + | + | Serum purpurrot | *) | | | |

*) Eine Verstärkung des Tones über die Farbe »Serum purpurrot« hinaus ist natürlich ohne Feststellung von Zahlen nicht konstatierbar.

Tabelle XXIX.

Atypisch verlaufene Milzbrandinfektionen.

| Nummer | Kaninchen | Es sind seit der Infektion verstrichen Stunden | Vor dem Tode Stunden | Nachweis von Bakterien im Blute | | Hämolyse | Nachhämolyse | Tod Stunden nach der Infektion | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | mikroskopisch | kulturell | | | | | |
| 67 | Agarkultur Anthrax 40 subkutan | normal | . | . | . | — | — | | | Serum 13' vor dem Exitus und bei der Sektion gelbbraun, nach 7h und am nächsten Tage zentrifug. Proben weisen den Farbenton »Serum purpurrot« auf. Keine Hämoglobinurie. |
| | | 6,05 | 42,38 | — | — | — | — | | | |
| | | 23,15 | 25,28 | — | — | — | — | | | |
| | | 29,45 | 18,58 | — | — | — | — | | | |
| | | 45,45 | 2,58 | + | stark bewachsener Strich | + | + | 48,43 | Sektion sofort | |
| | | 48,30 | 0,13 | + | do. | + | Serum purpurrot | | | |
| | | Sektion | . | + | + | + | Serum purpurrot | | | |
| 47 | Agarkultur Anthrax 40 intraperitoneal | Kontrolle | | | | — | | | | Sektion. Mikroskopisch in Herzblut, Leber und Milz Milzbrandbazillen. Kultur + |
| | | 20 | | 0 | + | — | | | | |
| | | 24 | | 0 | + | — | | | | |
| | | 25½ | | + | + | — | | | | |
| | | 26½ | | + | + | — | | | | |
| | | 30½ | | + | + | + ? | | | | |
| | | 31½ | | + | + | + ? | | | | |
| | | 32½ | | + | + | + | | | | |
| | | 33½ | | + | + | + | | | | |
| | | 34½ | | + | + | + | | | | |
| | | 35½ | | + | + | + | | | | |
| | | 36¾ | | + | + | + | | | | |

des Milzbrandbazillus »in Blutbouillon macht sich schwach hämolytische Wirkung bemerkbar«.

Zunächst untersuchten wir, ob Blut, Bouillonkulturen zugesetzt, gelöst werde. Das Resultat war ein höchst zweifelhaftes. Der mit gewöhnlicher, schwach alkalischer Bouillon angestellte Versuch liefs, in üblicher Weise ausgeführt, von hämolytischer Wirkung der Milzbrandkulturen nicht viel erkennen; erst als die mit Blut beschickten Röhrchen neuerdings auf einige Stunden in den Thermostaten gebracht worden waren, zeigte sich Lösung, konstant in den jüngeren Kulturen bei gewaschenen Blutkörperchen (Kaninchen), aber nur in manchen derjenigen Röhrchen, welchen Kaninchenblut zugesetzt worden war.

Tabelle XXX.

Hämolytisches Vermögen von Milzbrandbouillonkulturen.
(Kaninchenblutkörperchen.)

| Alter der Kulturen in Tagen | Gewaschen | | Nicht gewaschen | |
|---|---|---|---|---|
| | a | b | a | b |
| 1 | 0 | + | 0 | 0 |
| 2 | 0 | + | 0 | 0 |
| 3 | 0 | + | 0 | 0 |
| 4 | 0 | + | 0 | 0 |
| 5 | 0 | + | 0 | 0 |
| 6 | 0 | 0 | 0 | + |
| 7 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 8 | 0 | 0 | 0 | + |
| 9 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 10 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 11 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 12 | 0 | 0 | 0 | 0 |

a. Nach dem Blutzusatz $2^h$ bei 37° C, dann über Nacht in der Kälte gehalten.
b. Die a-Proben weitere 12 Stunden bei 37° C gehalten und dann das Resultat notiert.

Der Möglichkeit Rechnung tragend, dafs auch beim Milzbrand der Alkaligehalt der Bouillon von Einflufs auf die Lysinproduktion sein könne, beschickten wir Kolben mit Fleischwasser von verschiedener Alkalinität, nach dem Vorbilde von Neisser und Wechsberg ($^3/_3$, $^2/_3$, $^1/_3$) hergestellt mit Milzbrandbazillen,

bewahrten dieselben bei 37° C auf und prüften nach verschiedenen Zeiten die hämolytische Fähigkeit der Filtrate auf Kaninchenblut (gewaschen). Das Arbeiten mit Bouillonkulturen hatte Schwierigkeiten in der Beurteilung der Resultate ergeben. Die Bouillonen vom Gehalte $^3/_3$ ergaben ein negatives Resultat (7, 14, 21 Tage). Der Kolben von $^2/_3$ Alkalinität, nach 8 Tagen untersucht, liefs ebenfalls ein Hämolysin nicht erkennen. Das nach 14tägigem Wachstum aber gewonnene Filtrat zeigte blutlösende Kraft (Tab. XXXI). Ebenso lieferte ein Filtrat von $^1/_3$ Alkalinität nach 7tägigem Wachstum der Kultur Hämolysin (Tab. XXXII).

Tabelle XXXI.

Filtrat: 14 Tage alte Bouillonkultur Anthrax 74, $^2/_3$ alkalisch, gewaschene Kaninchenblutkörperchen, die inaktiven Proben 1 Stunde bei 65° C gehalten.

| Filtrat in 2 ccm | Isotom. Kochsalzlösung in 2 ccm | Aktiv | Inaktiv |
|---|---|---|---|
| 2 | | Flüssigkeit schwach rötlich, rote Knppe | 0 |
| 1 | 1 | Spnr | 0 |
| 0,8 | 1,2 | Spur | |
| 0,6 | 1,4 | 0 | 0 |
| 0,2 | 1,8 | 0 | |
| 0,06 | 1,94 | 0 | |
| 0,02 | 1,98 | 0 | |

Tabelle XXXII.

Filtrat: 7 Tage alte Bouillonkultur Anthrax 74, $^1/_3$ alkalisch, gewaschene Kaninchenblutkörperchen, die inaktiven Proben 1 Stnnde bei 65° C gehalten.

| Filtrat in 2 ccm | Isotom. Kochsalzlösung in 2 ccm | Aktiv | Inaktiv |
|---|---|---|---|
| 2 | | Flüssigkeit rötlich, sehr starke Kuppe | 0 |
| 1 | 1 | $^1/_3$ der Flüssigkeit stark rot | 0 |
| 0,8 | 1,2 | $^1/_4$ der Flüssigkeit stark rot | |
| 0,2 | 1,8 | Spnr | |
| 0,06 | 1,94 | 0 | |
| 0,02 | 1,98 | 0 | |

Um einen besseren Überblick über die Bedingungen zu erhalten, unter denen der Milzbrandbazillus Hämolysin produziert, wurde der in Tabelle XXXIII ausgewiesene Versuch angestellt.

Aus technischen Gründen wurde der im Zusammenhange dargestellte Versuch in zwei Etappen ausgeführt; in der ersten Hälfte untersuchten wir die hämolytische Kraft innerhalb der ersten 12 Tage, in der zweiten die zwischen dem 15. und 24. Tage produzierten Lysinmengen.

(Siehe Tabelle XXXIII u. XXXIV auf S. 256 u. 257.)

Die Filtrate, welche aus $^1/_3$ und $^3/_3$ Bouillonkulturen gewonnen worden waren, lassen jeglichen Einflufs auf die Erythrozyten des Kaninchens vermissen, diese Grade von Alkalinität, die Extreme, scheinen der Hämolysinproduktion des Milzbrandbazillus nicht günstig zu sein. Anders verhält sich die Sache bei den Filtraten der $^2/_3$ Bouillon. Hier fiel uns sofort nach dem Versetzen des Filtrates mit dem Blutstropfen beim Umschütteln auf, dafs das Blut in manchen Röhrchen (Tab. XXXIII in Stab 5, 6, 11, 12, 17 und 18 mit $\beta$ bezeichnet) Schokoladenfarbe zeigte. Von diesen Röhrchen zeigten nach Ablauf des üblichen Aufenthaltes in Wärme und Kälte einzelne (in der Tab. $\beta$ l) eine mehr oder minder starke braune Färbung der überstehenden Flüssigkeit. Diese Erscheinung trat bei den gewaschenen Blutkörperchen noch bei einer Verdünnung auf, wo sie bei den ungewaschenen ausblieb, auch hatte das Inaktivieren der Proben keinen Einflufs auf dieses Phänomen gezeitigt. Da wir aus den früheren Versuchen (Tab. XXXI und XXXII) wufsten, dafs das hämolytische Vermögen der Filtrate durch Inaktivieren (1 Stunde bei 65° C) stets aufgehoben worden war, so mufsten wir uns mit der Annahme, dafs es sich hier keinesfalls um eine typische Hämolyse, sondern vielleicht um eine Salzwirkung handeln könne, bescheiden.

Sichere Hämolyse jedoch erzielten wir mit dem Filtrat 15 Tage $^2/_3$ (Stab 29 und 30 der Tab. XXXIII). Doch war die hämolytische Wirkung äufserst schwach, sie äufserte sich in der konzentrierten Lösung (2 ccm Lysin) in rötlicher Färbung, ohne dafs der Tropfen komplett gelöst worden wäre, in den nächsten

## Tabelle XXXIII.

**Hämolytische Wirkung von Filtraten verschieden alter Milzbrandbouillonkulturen mit verschiedener Alkalinität.**

**Gewaschene (g) und nicht gewaschene (n) Kaninchenblutkörperchen.**

| Lysin aktiv in 2 ccm | 0,85proz. NaCl-Lösung in 2 ccm | 3 Tage | | | | | | 6 Tage | | | | | | 9 Tage | | | | | | 12 Tage | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1/8 | | 2/8 | | 3/8 | | 1/8 | | 2/8 | | 3/8 | | 1/8 | | 2/8 | | 3/8 | | 1/8 | | 2/8 | | 3/8 | |
| | | g | n | g | n | g | n | g | n | g | n | g | n | g | n | g | n | g | n | g | n | g | n | g | n |
| 2 | | — | — | β! | β | — | — | — | — | β! | β! | — | — | — | — | β | β | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 1 | 1 | — | — | β! | β! | — | — | — | — | β! | β! | — | — | — | — | β | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 0,8 | 1,2 | — | — | β! | β! | — | — | — | — | δ! | β | — | — | — | — | β | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 0,6 | 1,4 | — | — | β! | β | — | — | — | — | β | β | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 0,4 | 1,6 | — | — | β! | β | — | — | — | — | β | β | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 0,2 | 1,8 | | — | | | | | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 0,1 | 1,9 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 0,08 | 1,92 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 0,06 | 1,94 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| inaktiv | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | | — | — | β! | β | — | — | — | — | β! | β! | — | — | — | — | β | β | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 1 | 1 | — | — | β! | β! | — | — | — | — | β! | β! | — | — | — | — | β | β | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 0,4 | 1,6 | — | — | β! | β | — | — | — | — | β | β | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 |

| Lysin aktiv in 2 ccm | 0,85proz. NaCl-Lösung in 2 ccm | 15 Tage | | | | | | 18 Tage | | | | | | 21 Tage | | | | | | 24 Tage | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1/8 | | 2/8 | | 3/8 | | 1/8 | | 2/8 | | 3/8 | | 1/8 | | 2/8 | | 3/8 | | 1/8 | | 2/8 | | 3/8 | |
| | | g | n | g | n | g | n | g | n | g | n | g | n | g | n | g | n | g | n | g | n | g | n | g | n |
| 2 | | — | — | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 1 | 1 | — | — | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 0,8 | 1,2 | — | — | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 0,6 | 1,4 | — | — | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 0,4 | 1,6 | — | — | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 0,2 | 1,8 | — | — | | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 0,1 | 1,9 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 0,08 | 1,92 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 0,06 | 1,94 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| inaktiv | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | | — | — | | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 1 | 1 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 0,4 | 1,6 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | 27 | 28 | 29 | 30 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 | 39 | 40 | 41 | 42 | 43 | 44 | 45 | 46 | 47 | 48 | 49 | 50 |

β Chokoladenfarbe des aufgeschüttelten Blutes.

! Braunfarbung der Flüssigkeit.

\+ Rotfärbung der Flüssigkeit (typische Hämolyse).

Proben schwankte der Wert zwischen starker Kuppe und Spur; 0,1 hatte schon keine Wirkung mehr geäufsert. Das Verweilen der Proben bei 65° C durch eine Stunde (Stab 29 und 30) vernichtete die hämolytische Fähigkeit.

Tabelle XXXIV.

Säuregrad der in Tabelle XXXIII verwendeten Filtrate.

| Alter der Kultur in Tagen | 3 | 6 | 9 | 12 | 15 | 18 | 21 | 24 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Alkaligehalt $^1/_3$ Titre der Bouillon | 0,80 | 0,80 | 0,80 | 0,80 | 0,80 | 0,80 | 0,80 | 0,80 |
| Titre des Filtrates | 1,60 | 1,30 | 1,30 | 1,30 | 1,20 | 1,15 | 0,80 | 1,10 |
| Differenz | +0,80 | +0,50 | +0,50 | +0,50 | +0,40 | +0,35 | 0 | +0,30 |
| Alkaligehalt $^2/_3$ Titre der Bouillon | 0,60 | 0,60 | 0,60 | 0,60 | 0,60 | 0,60 | 0,60 | 0,60 |
| Titre des Filtrates | 1,20 | 1,10 | 0,90 | 0,90 | 0,90 | 1,20 | 1,10 | 1,10 |
| Differenz | +0,60 | +0,50 | +0,30 | +0,30 | +0,30 | +0,60 | +0,50 | +0,50 |
| Alkaligehalt $^2/_3$ Titre der Bouillon | 0,40 | 0,40 | 0,40 | 0,40 | 0,30 | 0,30 | 0,30 | 0,30 |
| Titre des Filtrates | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 0,60 | 0,60 | 0,60 | 0,50 |
| Differenz | +0,60 | +0,60 | +0,60 | +0,60 | +0,30 | +0,30 | +0,30 | +0,20 |

Die Zahlen geben an, wieviel Kubikzentimeter einer $^1/_{10}$ n-Lauge zu 5 ccm Bouillon bzw. Filtrat zugesetzt werden mufsten, um mit Phenolphthalein Rotfärbung zu erhalten.

Auffallend ist in unserer Tabelle XXXIII verglichen mit Tabelle XXXII, dafs, während wir in letzterer bei $^1/_3$ Alkalinität Hämolyse konstatiert hatten, hier mit $^1/_3$ Bouillon niemals ein hämolytisch wirkendes Filtrat erzielt wurde, obwohl doch in allen Versuchen ein und derselbe Stamm verwendet worden war. Auch fällt uns auf, dafs die hämolytische Wirkung im allgemeinen sich hinsichtlich ihrer Stärke innerhalb sehr bescheidener Grenzen bewegt. Verglichen mit den starken Graden von Hämolyse, welcher wir im Tier bei der Milzbrandinfektion begegnen, scheint die Aussicht bei dem Milzbrandbazillus aus Bouillonkulturen wirksame Filtrate zu erhalten, recht unsicher und quantitativ wenig Ausbeute versprechend zu sein.

## Wie verhält sich der NaCl-Gehalt des Blutes bei der Milzbrandinfektion des Kaninchens?

Zweck der folgenden Untersuchungen war, zu erfahren, ob beim Verlaufe der Milzbrandinfektion eine nennenswerte Anderung im Kochsalzgehalte des Blutes einzutreten pflege; eine solche Anderung des osmotischen Druckes könnte ja durch Ansteigen des Salzgehaltes (Hyperisotonie) oder durch Abfallen desselben (Hypisotonie) die roten Blutzellen zum Austretenlassen ihres Hämoglobins zwingen.

In erster Linie sollten uns einige Untersuchungen an normalem Kaninchenblut Aufschlufs über den Gehalt desselben an Cl geben, welcher Wert dann als NaCl berechnet unseren Resultaten zugrunde liegt.

Nach Abderhalden [12] finden sich in 1000 Gewichtsteilen Blut 2,898 Teile Chlor. Auf NaCl berechnet entspricht diese Zahl einem Gehalte von 4,775 NaCl für 1000 Teile, also 0,47 %. Wir haben in unseren Untersuchungen gewogene Blutmengen verascht, die Asche gelöst, iin der Lösung den Cl-Gehalt nach Mohr bestimmt und die Werte zusammen auf NaCl % umgerechnet. Tabelle XXXV gibt eine Übersicht über die gefundenen Werte. Nimmt man den Durchschnitt aus den sechs Bestimmungen, so erhalten wir einen Wert von 0,46 % NaCl für Kaninchenblut, also eine zu den Analysen von Abderhalden (0,47 %) durchaus gut stimmende Zahl.

Tabelle XXXV.

Cl-Gehalt normalen Kaninchenblutes als NaCl % berechnet.

| | | |
|---|---|---|
| I | 0,48 | Durchschnitt 0,46 %. |
| II | 0,52 | Chlorgehalt des Blutes nach Abderhalden auf NaCl % berechnet 0,47 %. |
| III | 0,50 | |
| IV | 0,45 | |
| V | 0,39 | Gröfste Differenz normaler Zahlen 0,13. |
| VI | 0,46 | |

Um den Gehalt des Blutserums an NaCl zu bestimmen, müfste man natürlich eine komplizierte Rechnung anstellen, um den auf die Blutkörperchen selbst entfallenden Wert, für Cl zu

bestimmen, um welchen verringert die für das Blut gefundene Zahl beim Serum Gültigkeit hätte.

Den mit Milzbrand infizierten Tieren wurden von Zeit zu Zeit Blutentnahmen gemacht, der Cl-Gehalt des Blutes wie oben bestimmt und auf Na Cl % umgerechnet. Die Zahlen sind in folgender Tabelle verzeichnet.

Tabelle XXXVI.

Cl-Gehalt des Blutes bei Milzbrandinfekt. des Kaninchens berechnet als Na Cl.

| Nr. | Stunden nach der Infektion | Stnnden vor dem Tode | Na Cl % Gehalt des Blutes | Differenz zwischen Kontrolle u. Sektions-blut |
|---|---|---|---|---|
| 62 | Kontrolle | | 0,48 | |
| | 24 | 23 | 0,59 | 0,01 |
| | 41 | 6 | 0,52 | |
| | 47 (Sektion) | | 0,49 | |
| 67 | Kontrolle | | 0,39 | |
| | 24 | 26½ | 0,43 | 0,07 |
| | 47½ | 3 | 0,48 | |
| | 50½ (Sektion) | | 0,46 | |
| 68 | Kontrolle | | 0,46 | |
| | 24 | 25½ | 0,40 | 0,11 |
| | 47 | 2½ | 0,60 | |
| | 49½ (Sektion) | | 0,57 | |
| Grösste Differenz unter normalen Bluten | | | | 0,13 |

Wie wir sehen, sind keine besonderen Differenzen zwischen den Na Cl-Werten des Kontrollblutes (vor der Infektion) und denjenigen des Sektionsblutes zu verzeichnen. Die grösste Differenz beträgt 0,11. Sehen wir uns in Tabelle XXXV die grösste Differenz an, welche der Na Cl-Gehalt des Blutes bei normalen Tieren aufweist, so finden wir eine grösere Zahl, nämlich 0,13. Die Schwankungen dieser Zahlen unter normalen Tieren sind also grösser als die grösste Differenz zwischen Normalblut und Sektionsblut eines Milzbrandkaninchens gewesen. Wir glauben also die Annahme einer Störung der Isotonie für die roten Blutzellen des Kaninchens, soweit der Na Cl-Gehalt in Betracht kommen könnte und unsere wenigen Versuche ein Urteil gestatten, als ätiologisches Moment für die Hämolyse bei der Milzbrandinfektion als nicht genügend begründet zurückweisen zu müssen.

Aber wir sind imstande, noch einen anderen Beweis dagegen zu führen, dafs Störung der Isotonie bei der Milzbrandinfektion für die Hämolyse verantwortlich zu machen sei.

Wenn im Serum des milzbrandkranken Kaninchens zur Zeit, wo wir eine Schädigung der Erythrozyten nachweisen können, geänderte isotonische Verhältnisse Schuld tragen sollen an der Auflösung, so mufs es uns ja gelingen, durch Einbringen von normalen Blutkörperchen in das kranke Serum dieselben zur Auflösung zu bringen. Dieses Experiment versagt gänzlich; nebenbei sei erwähnt, dafs es mit grofsen Schwierigkeiten verbunden ist, das zum Versuche geeignete Serum zu erhalten. Wir haben schon oben darauf hingewiesen, dafs die Schädigung der roten Blutzellen erst in den letzten Stunden vor dem Tode, und zwar als Nachhämolyse, erkennbar zu werden pflegt. Dafs eine Nachhämolyse eingetreten ist, können wir aber erst am Tage nach der Entnahme konstatieren, und wir wissen zur Zeit derselben noch nicht, ob wir Nachhämolyse beobachten werden; dieser Umstand fordert einerseits möglichst viele Entnahmen, anderseits aber wollen wir ja eine Entziehung gröfserer Blutmengen tunlichst vermeiden. Zu beachten ist auch noch der Umstand, dafs das Serum des entnommenen Blutes nicht mit demselben in Berührung bleiben darf, sondern sofort abgesondert werden mufs, da wir ja im Falle einer Nachhämolyse auch in der Probe, mit welcher wir dann den Versuch zu machen haben werden, Färbung des Serums erhalten würde und eine kolorimetrische Bestimmung dann nicht mehr gut durchführbar wäre.

Tabelle XXXVII und XXXVIII stellt die Resultate dar. In Tabelle XXXVII haben wir zwei Versuche verzeichnet, welche uns zunächst im Kopfe der Tabelle Aufschlufs über das Verhalten des Tieres geben. Wir sehen hier registriert, ob und wann Hämolyse (H) oder Nachhämolyse (NH) aufgetreten sei, wir finden auch angegeben, ob mikropisch (m) oder kulturell (k) zu dieser Zeit Bakterien im Blute nachgewiesen worden seien. Die Versuche wurden so angestellt, dafs die entsprechenden Sera (aktiv und inaktiv) mit normalen gewaschenen Kaninchenerythrozyten gemischt und mit dem Gemisch 3 Kapillaren gefüllt wurden.

Eine dieser Kapillaren wurde sofort zentrifugiert und das abgesetzte Serum neuerdings in eine Kapillare so umgefüllt, dafs keine Blutkörperchen mehr zugegen waren. Dieses Röhrchen diente als Vergleichsobjekt; die anderen Röhrchen blieben bis zum nächsten Tage bei Zimmertemperatur liegen, wurden dann zentrifugiert und mit dem Teströhrchen verglichen. Dieselbe Technik wurde bei Tabelle XXXVIII geübt, nur wurde hier in Stab 4, 5 und 6 Kochsalzlösung an Stelle des Serums verwendet.

In Tabelle XXXVII Nr. 67 kam nun der Umstand zugute, dafs die schon intra vitam aufgetretene und weiter oben bereits genügend gewürdigte Färbung des Serums nicht so intensiv war, dafs es nicht noch möglich gewesen wäre, bei Blutkörperchenzusatz und eventueller Lösung eine Verstärkung des Farbentones zu konstatieren. Auch hier trat keine Lösung der dem Serum zugesetzten normalen Kaninchenerythrozyten ein.

Dafs aber eine Schädigung der Blutkörperchen des kranken Tieres erfolgt war, zeigt uns auch der Versuch in Tabelle XXXVIII, wo sich die Blutkörperchen, in NaCl suspendiert, lösten, während die mit normalen Blutkörperchen angesetzte Kontrolle keine Lösung aufwies. Hier verhalten sich die Blutkörperchen genau so wie die durch Staphylolysininjektion geschädigten Blutzellen, und auch dadurch gewinnt der Schlufs, dafs es sich bei der Milzbrandinfektion um die Bindung von Anthrakolysin, das im Tierkörper erzeugt wird, handle, vielleicht an Wahrscheinlichkeit.

Tabelle XXXVII.

Einfluſs des Serums milzbrandkranker Kaninchen auf normale Kaninchenerythrozyten.

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| H | — | | — | | — | | — | | H | — | | + | | + | |
| NH | — | | — | | — | | + | | NH | — | | + | | + | |
| m | — | | — | | — | | + | | m | — | | + | | + | |
| k | — | | — | | — | | + | | k | — | | + | | + | |
| vor dem Tode | Serum des Tieres vor d. Infektion | | 25h 42′ | | 18h 22′ | | 2h 42′ | | vor dem Tode | 17h 45′ | | 2h 58′ | | sofort nach dem Tode | |
| Nr. | a | i | a | i | a | i | a | i | Nr. | a | i | a | i | a | i |
| 68 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 67 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

a = aktives Serum. i = inaktives Serum.

Tabelle XXXVIII.

Einfluſs des Serums milzbrandkranker Kaninchen auf normale Kaninchenerythrozyten. Nachlösung der kranken Blutkörperchen in isotonischer Kochsalzlösung.

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| H | — | — | — | + | |
| NH | — | + | + | | |
| m | — | — | — | + | |
| k | — | + | + | + | |
| vor dem Tode | ca. 20 Std. | ca. 3½ Std. | ca. 3½ Std. | Sektion | Kontrolle |
| Nr. 73 | Serum 73 + normale gewaschene Erythrozyten | Serum 73 + normale gewaschene Erythrozyten | Blutkörperchen 73 in 0,85 proz. Na Cl-Lösung | Blutkörperchen 73 in 0,85 proz. Na Cl-Lösung | Normale Blutkörperchen in 0,85 proz. Na Cl-Lösung |
| | keine Lösung | keine Lösung | Lösung | Lösung | keine Lösung |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |

## Kreist bei der Milzbrandinfektion des Kaninchens freies Lysin im Serum?

Wir haben dieselbe Frage gelegentlich der Versuche mit Staphylolysin für den Staphylokokkus verneint. Auch für den Milzbrand stehen wir auf demselben Standpunkte, der theoretisch wohl fundiert ist und oben bereits besprochen wurde. Als experimenteller Beweis hätte auch hier das durchaus negative Verhalten der Serumproben in den oben zitierten Tabellen XXXVII und XXXVIII bei Nr. 67, 68 und 73 zu gelten. Im Serum befindliches, freies, nicht verankertes Lysin hätte von den Erythrozyten gebunden werden müssen, welche dann der Lösung anheimgefallen wären.

## Warum sehen wir beim Milzbrandkaninchen keine Hämoglobinurie?

Wir konnten bei der Milzbrandinfektion des Kaninchens zeigen, dafs eine sehr intensive Hämoglobinämie bei unmittelbar nach dem Tode vorgenommenen Sektionen bereits vorhanden ist. Da wir ja heute über die Existenz eines Milzbrandtoxins so gut wie nichts wissen, war der Gedanke nur selbstverständlich, den Tod des Milzbrandkaninchens mit der intensiven Auflösung von

roten Blutkörperchen in Zusammenhang zu bringen. Nun wissen wir, dafs es eine ganze Menge von Krankheitsprozessen des Menschen gibt, bei denen Hämoglobinurie aufzutreten pflegt, die ja eine Folge bestehender Hämoglobinämie ist, Hämoglobinurien, die eine Zeitlang anhalten, durchaus nicht immer tödlich enden, sondern in vielen Fällen mit Genesung des Patienten ablaufen. Wir wollen nur an die paroxysmale Hämoglobinurie, an Fälle von Hämoglobinurie bei Scharlach (Heubner) und anderen Infektionskrankheiten erinnern, auch des Schwarzwasserfiebers nicht vergessen. Niemals aber haben wir beim Milzbrandkaninchen Hämoglobinurie beobachten können, obwohl die Intensität der Hämolyse zweifellos so grofs war (purpurrotes Blutserum), dafs für das Zustandekommen einer Hämoglobinurie, soweit es auf die Hämoglobinmenge im Blute ankommt, sicherlich die nötigen Bedingungen gegeben gewesen sein müfsten. Immerhin wollten wir Vergleichsmaterial untersuchen, um bei Vergiftungen mit Blutgiften nachzusehen, wie sich einerseits Auftreten von freiem Hämöglobin im Serum zur Hämoglobinurie verhalte, und wie sich andererseits wiederum die Intensität der Hämolyse zum Erlöschen der Lebensfunktion stellen möge.

Es ist eine bekannte Tatsache, dafs bei subkutaner Einverleibung von Glyzerin beim Kaninchen Hämoglobinämie und Hämoglobinurie sich einzustellen pflegt, während angeblich bei intravenöser Einverleibung die Lösung der roten Blutzellen ausbleiben soll. Filehne [36] erklärt auf Grund von experimentellen Erfahrungen die Vorgänge folgendermafsen: Bei der subkutanen Injektion von Glyzerin treten die die Injektionsstelle passierenden Erythrozyten in Diffusionsverkehr mit dem Glyzerin, verlieren Wasser und die in diesem gelösten Salze, sie schrumpfen; gelangen nun solche Blutkörperchen in normales Blut oder normales Serum, so quellen dieselben vermöge erfolgender Blutwasseraufnahme auf und nun diffundiert der Blutfarbstoff ins normale Serum, die Hämoglobinämie ist da. Bei intravenöser Zuführung des Glyzerins hingegen ist nach Filehne den roten Blutzellen wohl die Diffusionsmöglichkeit gegen das Glyzerin

gegeben, aber es sei hier kein Lösungsmittel und desbalb die Bedingungen zum Austritte des Blutfarbstoffes nicht vorhanden. Ohne weiter diese Ansicbt von Filehne diskutieren zu wollen, sei nur erwähnt, dafs wir durch intravenöse Injektion von Glyzerin (10 ccm) beim Kaninchen intensive Hämoglobinämie auslösen konnten. Diese Eigenschaft des Glyzerins nun verwendeten wir, um aus der Intensität der Hämoglobinämie bei der Glyzerinvergiftung eventuelle Rückschlüsse auf den in respiratorischer Hinsicht gewifs nicht zu unterschätzenden Ausfall an roten Blutzellen bei der Milzbrandinfektion ziehen zu können.

Die Versuche wurden mit subkutaner und intravenöser Applikation des Glyzerins angestellt, der Einfachheit halber seien nur erstere besprochen. Nach kurzer Zeit, schon 5 Minuten nach beendeter Injektion des Glyzerins, bemerken wir beginnende Hämoglobinämie, dieselbe ist nach 15—30 Minuten bereits so deutlich erkennbar, dafs ein Zweifel ausgeschlossen erscheint. Starke Grade wurden schon 1 Stunde 40 Minuten nach der Einverleibung beobachtet und bei zwei Tieren, die 1,22% bzw. 1,37% ihres Körpergewichtes an Glyzerin injiziert erhalten hatten, trat der Tod ein, ohne dafs es zur Hämoglobinurie gekommen wäre.

(Siehe Tabelle XXXIX auf S. 265.)

Diese Fälle zeigen, dafs durchaus nicht immer eine Hämoglobinämie auch von Hämoglobinurie begleitet oder gefolgt sein müsse. Dies scheint erst dann der Fall zu sein, wenn die Hämoglobinämie im Tierkörper durch längere Zeit perisistiert und zwar vielleicht gerade in den Fällen, in welchen zunächst durch einige Zeit nur mildere Grade von Hämoglobinämie bestehen. Wir haben in Tabelle 40 einen solchen Fall dargestellt. Das Tier, welches eine viel gröfsere Prozentmenge von Glyzerin erhalten hatte als die beiden vorerwähnten, von dem wir also einen zu mindest ebenso raschen Tod annehmen konnten, erlag der Vergiftung viel langsamer als die anderen. Hier kam es zur Hämoglobinurie, die wir intra vitam und bei der Sektion konstatieren konnten.

Tabelle XXXIX.

Subkutane Injektion von Glyzerin bei Kaninchen. Fehlen der Hämoglobinurie bei starker Hämoglobinämie.

| Kaninchen Nr. | Blutprobe Nr. | Seit der Injektion verstrichen | Farbe des Blutserums | |
|---|---|---|---|---|
| 61 | 1 | Kontrolle | fast farblos | Erhält 1,37 % seines Körpergewichtes reines Glyzerin subkutan. Der Blaseninhalt zeigt sich bei der Sektion lichtgelb. |
| | 2 | 5 Min. | schwach rötlich | |
| | 3 | 10 Min. | do. | |
| | 4 | 20 Min. | do. | |
| | 5 | 30 Min. | stärker rötlich als Nr. 4 | |
| | 6 | 45 Min. | stärker rötlich als Nr. 5 | |
| | 7 | 1 Std. | sehr stark rötlich | |
| | 8 | 1 Std. 40 Min. | purpurrot | |
| | 9 | 2 Std. 07 Min. | purpurrot | |
| | 10 | 2 Std. 11 Min. (Tod, Sektion) | purpurrot | |
| 60 | 1 | Kontrolle | farblos | Erhält 1,22 % seines Körpergewichtes reines Glyzerin subkut. Die 15 Min. vor dem Tode vorgenommene Blasenpunktion zeigt hellgelb. nicht hämoglobinurischen Harn. |
| | 2 | 15 Min. | rötlich | |
| | 3 | 30 Min. | zunehmende Intensität der Rotfärbung | |
| | 4 | 50 Min. | | |
| | 5 | 1 Std. 20 Min. | | |
| | 6 | 1 Std 50 Min. | | |
| | 7 | 2 Std. 50 Min. Tod, Sektion | stark weinrot | |

Tabelle XL.

Kaninchen Nr. 302 erhält 33,8 g Glyzerin (2 % seines Körpergewichtes) subkutan. Hämoglobinämie und Hämoglobinurie.

| Nr. | Seit der Injektion verstrichen | Serumfarbe des sofort zentrifugierten Blutes | NH nach 3—4h | NH nach ca 24h | Hämoglobinurie | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Kontrolle | fast farblos | — | — | | Wurde abends 8h 30' kalt und starr gefunden. Sektion am Vormittag des nächsten Tages. Blase mit dunkelrotem Harn gefüllt. |
| 2 | 7 Min. | leicht gelbl. Stich | — | — | | |
| 3 | 15 Min. | gelber als Nr. 2 | — | — | | |
| 4 | 30 Min. | bräunlich | — | — | | |
| 5 | 45 Min. | rötlichbraun | — | — | | |
| 6 | 60 Min. | stärker als Nr. 5 | — | — | | |
| 7 | 1 Std. 18 Min. | wie Nr. 6 | — | — | + | |
| 8 | 3 Std. 18 Min. | purpurrot | — | — | | |
| 9 | 4 Std. 18 Min. | purpurrot | — | — | | |
| | Sektion | dunkelrot | | | | |

Sehen wir uns nun in unseren Tabellen das Verhalten der Blutsera an, so sehen wir insbesondere bei Nr. 302 in klarer Weise, dafs ein Tier mit einer beträchtlichen Hämoglobinämie immerhin einige Zeit am Leben bleiben kann; im angezogenen Falle war schon 45 Minuten nach der Injektion das Serum rötlichbraun, 3 Stunden 18 Minuten nach derselben purpurrot; diese Intensität hatte durch mindestens eine Stunde, ja wahrscheinlich noch länger bestanden. Noch eine weitere Beobachtung scheint uns von einiger Bedeutung. Betrachten wir bei unseren Milzbrandkaninchen das Verhalten der Blutproben bezüglich der Nachhämolyse, so sehen wir, dafs das Auftreten derselben innerhalb der letzten Lebensstunden die Regel ist. Vergleichen wir aber diesen Befund mit den Beobachtungen an den Glyzerinkaninchen, wo eine Nachhämolyse durchaus zu fehlen pflegt, wo niemals eine Verstärkung der Blutserumfarbe bei 24 Stunden gelagerten Serumproben zu konstatieren war, so werden wir einen Fingerzeig erhalten, wo der Schlüssel zu diesen Vorgängen zu finden sei. Die Hämolyse bei der Glyzerinvergiftung ist wohl zweifellos auf eine Störung der isotonischen Verhältnisse zurückzuführen, nicht aber auf eine Giftbindung, wie wir sie etwa bei den Versuchen mit Kaninchen injiziertem in vitro präformiertem Staphylolysin zeigen konnten. Bei der Glyzerinvergiftung scheinen die Dinge so zu liegen, dafs die durch den Wechsel des osmotischen Druckes geschädigten Erythrozyten im Blute äufserst rasch ihr Hämoglobin abgeben, sonst würden wir ja eine Nachhämolyse regelmäfsig beobachten müssen; bei der Giftbindung (Staphylolysinversuch) mufs ja erfahrungsgemäfs erst eine gewisse Zeit vergehen, ehe die vergifteten Erythrozyten sich lösen. Nun haben wir aber ja bei den Glyzerinversuchen gesehen, dafs eine starke Hämoglobinämie (Serum in unserer Normalkapillare purpurrot) eine Zeitlang ertragen werden kann, ohne dafs der Tod rasch eintritt, wie dies bei der Milzbrandinfektion meist der Fall ist. Das mag ganz richtig sein, aber bei der Milzbrandinfektion sind ja gewifs noch viel mehr Erythrozyten für die Respiration unbrauchbar geworden, als der Hämoglobinmenge entspricht, welche den purpur-

roten Ton des Serums erzeugt. Wir können dies ja aus der Nachhämolyse schliefsen, und so erscheint uns der rasche Tod beim Milzbrandtier gut erklärlich. Dieses rasche Eintreten des Todes (Erstickung?) erklärt auch das Ausbleiben der Hämoglobinurie beim Milzbrandtier.

## IV. Bacillus pyocyaneus.

Charrin (37) hat seinerzeit nachgewiesen, dafs Filtrate von Pyocyaneuskulturen, Kaninchen und Meerschweinchen einverleibt, dieselben Symptome hervorzurufen imstande seien, wie dies von seiten der lebenden Bakterien zu geschehen pflegt.

Wassermann (38) hat sich eingehend mit der Frage beschäftigt, ob der Bacillus pyocyaneus ein echtes, von den lebenden Bakterien sezerniertes Toxin produziere, oder ob es sich bei der Giftwirkung abgetöteter Pyocyaneuskulturen lediglich um ein »ausgelaugtes Endotoxin« handle. Wohl mehr dem Standpunkte zuneigend, dafs es sich hauptsächlich um echtes sezerniertes Toxin handle, kommt Wassermann doch zu dem Endergebnis, dafs die Giftwirkung sterilisierter Pyocyaneusbouillonkulturen sich aus der Wirkung echten Toxins und ausgelaugter Endotoxine zusammensetze. Es wird neben der giftigen Eigenschaft des Toxins demselben in neuerer Zeit auch eine blutlösende zugeschrieben, welche prinzipiell und funktionell von demselben verschieden sein soll, etwa in Analogie zum Tetanospasmin und Tetanolysin. Diese hämolytische Eigenschaft der Pyocyaneuskulturfiltrate, mit dem Namen Pyocyanolysin belegt, ist Gegenstand mehrerer allerdings in ihren Resultaten recht divergierender Untersuchungen geworden, die wir im folgenden kurz anführen wollen.

Zuerst haben Bulloch und Hunter (39) angegeben, dafs sich in Bouillonkulturen von Bact. pyocyaneum ein Körper befinde, das Pyocyanolysin, welches im Reagensglase die Erythrozyten des Ochsen, des Schafes, des Kaninchens und anderer Tiere aufzulösen imstande sei. Dieses Gift variiere in verschiedenen Kulturen, sei in jungen in geringerer Menge vorhanden als in

solchen vom Alter von 3—4 Wochen. Durch 15 Minuten langes Kochen unfiltrierter Kulturen werde das hämolytische Vermögen nicht beeinträchtigt, jedoch gehe dasselbe verloren, wenn man Pyocyanolysin enthaltende Filtrate in gleicher Weise behandle. Die beiden Autoren haben sich bei ihren Versuchen einer 0,6proz. Kochsalzlösung bedient.

Weingeroff [40] macht den Versuchen von Bulloch und Hunter den Einwand, dafs ihre Kochsalzlösung von 0,6% nicht isotonisch gewesen sei und er wiederholt gesehen habe, dafs bei dieser Salzkonzentration Erythrozyten sich ohne jeden anderen Zusatz schon gelöst hätten. In der Tat ist ja die Verwendung einer 0,85proz. NaCl-Lösung zu solchen Versuchen heute die allgemein übliche. Bezüglich der Hitzebeständigkeit der Kulturfiltrate stellt sich Weingeroff in direkten Gegensatz zu Bulloch und Hunter, indem er berichtet, dafs ein 30 Minuten währendes Erhitzen auf 120° dem hämolytischen Vermögen seiner Filtrate nicht geschadet hätte. Weingeroff tritt auch für eine prinzipielle Verschiedenheit von Toxin und Hämolysin ein.

Lubenau [26] steigen und wohl mit vollem Rechte, Zweifel auf, ob denn wirklich die Wirkung hämolysierender Piocyaneusfiltrate als »Lysinwirkung« aufzufassen sei. Das Zusammentreffen der starken Lysinwirkung mit stark alkalischer Reaktion der Filtrate ist ihm sehr verdächtig und Lubenau schon meint, »dafs es möglicherweise relativ einfache chemische Bakterienprodukte wie Ammoniak und dergleichen seien, welche das Hämolysierungsvermögen der Bakterienkulturen, wenn auch nicht ganz bedinge, so doch wenigstens einen wesentlichen Anteil daran haben«. Diese Richtigkeit dieser Ansicht wird bedeutend unterstützt, wenn man bedenkt, dafs es Lubenau gelungen ist, durch Neutralisieren der Filtrate auf den Lackmuspunkt eine Verminderung der hämolytischen Wirkung nachzuweisen.

Margarethe Breymann [41] widerlegt einige der Schlufssätze von Bulloch und Hunter und steht auf demselben Standpunkte wie Weingeroff, nachdem es auch ihr nicht gelungen ist, durch Erhitzen von Kulturen oder Filtraten von Piocyaneus eine Inaktivierung zu erreichen.

Loew und Kozai [42] behaupten ebenso wie Weingeroff eine Verschiedenheit zwischen Pyocyaneustoxin und Pyocyaneuslysin.

Jordan [43] aber scheint nun in der ganzen Frage, soweit sie die Reagensglasversuche mit Bouillonkulturen oder Filtraten anbelangt, das richtige Urteil gesprochen zu haben. Nach seinen Versuchen kann man mit steigender oder fallender Alkaleszenz der Filtrate von B. Pyocyaneus die hämolysierende Kraft in gleichem Mafse zu Zu- oder Abnahme veranlassen, ja sie durch Neutralisation zerstören. Mit diesem Befunde erhält die Theorie von der Existenz des Pyocyanolysin in Filtraten einen argen Stofs, jedenfalls aber werden kommende Untersucher gut daran tun, eine Alkaliwirkung im Reagensglase erst sorgfältig auszuschliefsen, ehe sie die hämolysierende Wirkung von Pyocyaneusfiltraten mit Recht einem Pyocyanolysin zuschreiben dürfen.

## Untersuchungen über Hämolyse bei mit Bacillus pyocyaneus infizierten Kaninchen.

Wie liegen nun die Dinge bei der Einverleibung von Pyocyaneusbazillen im Tierkörper? Das Meerschweinchen, welches wohl seiner Empfänglichkeit wegen als bestes Testobjekt für für unsere Untersuchungen in erster Linie hätte in Verwendung kommen sollen, konnte aus schon oben ausgeführten Gründen für systematische Versuchsreihen leider nicht in Betracht gezogen werden. Aber die Blutveränderungen am Kaninchen zu studieren, bot auch manche Schwierigkeiten. Bei Einverleibung kleiner Dosen gelingt die tödliche Infektion in vielen Fällen nicht, nimmt man grofse Dosen, so tritt der Tod oft überaus rasch ein und man verfügt nun nicht über eine genügende Zahl von Blutproben; insbesondere bei intraperitonealer Infektion ist dies meist der Fall. Die subkutane Infektion mit relativ grofsen Dosen (etwa 1 Agarröhrchen) bot nun Gelegenheit, an einigen Entnahmen die Verhältnisse gut studieren zu können, später gaben wir gröfsere Dosen Agarkultur auch intraperitoneal, so dafs innerhalb von 1—3 Stunden der Tod eintrat und wir leicht imstande waren, denselben abzuwarten.

Bei der Sektion von Tieren, die akut zugrunde gegangen, aber z. B. nachts gestorben, erst einige Stunden post mortem zur Obduktion gelangten, fanden wir ausnahmslos das Serum von rötlichbrauner, weinroter, purpurroter Farbe, also Befunde, die mit Sicherheit auf Austritt von Hämoglobin im Serum schliefsen lassen. Gelangten die Tiere sofort nach dem Tode zur Sektion, so konnten wir konstatieren, dafs zu dieser Zeit eine Lösung von Blutkörperchen im Serum noch nicht stattgefunden hatte, wohl aber waren die Parallelproben, zur Untersuchung auf Nachhämolyse bestimmt, stets stark rot gefärbt. Auch bei Tieren, welche der Infektion nicht erlagen, konnten wir durch den Befund der Nachhämolyse eine stattgehabte Schädigung der Erythrozyten beweisen. Wir heben hier einen interessanten Befund in Tabelle XLI Nr. 157 hervor. Das Tier hatte ein Röhrchen 48 Stunden alter Agarkultur subkutan erhalten. Zirka 24 Stunden nach der Infektion zeigte sich Nachhämolyse, welche durch einen Zeitraum von mindestens drei Tagen anhaltend die Beeinflussung der Erythrozyten erkennen liefs. Dasselbe Tier erhielt dann später eine zweite Injektion von der doppelten Dosis inzwischen in ihrer Virulenz gesteigerter Kultur, es zeigte keinerlei Erscheinungen von Blutlösung mehr, ging aber dessenungeachtet im Verlaufe von 20 Tagen marantisch zugrunde. Es ist das einer von jenen Fällen, welche uns zur Untersuchung anregen, ob man bei mit lebenden Reinkulturen vorbehandelten Tieren eine gewisse Immunität der Blutkörperchen gegen hämolytische Einflüsse, über die wir zurzeit ja noch wenig orientiert sind, erzielen könne, natürlich ohne eine wirkliche Immunität gegen den betreffenden Erreger zu erreichen. Diese derzeit aufserhalb unseres Programmes gelegenen Untersuchungen sollen demnächst in Betracht gezogen werden, da sie uns hinsichtlich des Immunitätsproblemes nicht ohne Interesse zu sein scheinen. Wir haben oben bei der Staphylokokkeninfektion auf einen Fall aufmerksam gemacht, welcher ganz analog verlaufen ist. In Tabelle XLII sehen wir drei Fälle verzeichnet, welche während der ganzen Zeit von der erfolgten Infektion an genau beobachtet wurden, aufserdem ist ein Fall (304) angereiht, welcher

zeigen soll, wie rasch nach dem Tode innerhalb des Tierkörpers Hämolyse eintreten kann. Während bei Nr. 314, 365 und 366 die sofort nach dem Tode entnommene Blutprobe ein Serum zeigte, dessen Farbe sich nicht oder zumindest nicht wesentlich von der der Kontrollprobe desselben Tieres unterschied, sehen wir bei Nr. 304, dessen Sektion sicher nicht später als höchstens 3 Stunden nach dem Tode gemacht wurde, das Serum bereits hämolytisch (rötlichbraun). Auch hier bei der Pyocyaneusinfektion sehen wir also dieselbe Erscheinung, die wir schon bei der Staphylokokken- und Streptokokkeninfektion beobachten konnten, dafs zur Zeit des Todes eine Hämoglobinämie nicht besteht, dafs wir aber die Läsion der Erythrozyten vermittelst der Untersuchung auf Nachhämolyse nachzuweisen imstande sind.

Tabelle XLI.

Pyocyanensinfektion. Kaninchen Nr. 157. Subkutane Einverleibung.

| Datum | Zeiten | H | NH | Gewicht | |
|---|---|---|---|---|---|
| 20. VIII | Kontrolle | — | — | | Ab 2. XII wurden täglich Blutproben untersucht, dieselben waren stets negativ, der Kürze halber sind dann weiter nur wenige Tage in der Tabelle verzeichnet worden. |
| 7h 16' p. m. | 1 Röhrchen Agarkultur subkutan | | | | |
| 21. VIII. | 6 Std. 40 Min. | — | + | | |
| 22. VIII. | 12 Std. 35 Min. | — | + | | |
| 23. VIII. | 6 Std. 30 Min. | — | + | | |
| 1. XII. | Kontrolle | — | — | 2060 | |
| 2 XII. | Kontrolle | — | — | | |
| 12h 20' | 2 Röhrchen Agarkultur subkutan | | | | |
| | 4 Std. 30 Min. | — | — | | |
| 3. XII. | 11 Std. 55 Min. | — | — | 1985 | |
| | 5 Std. | — | — | | |
| 4. XII. | 12 Std. 20 Min. | — | — | | |
| 5. XII. | 12 Std. | — | — | | |
| 6 XII. | 12 Std. 30 Min. | — | — | | |
| 7. XII. | 11 Std. 50 Min. | — | — | 1905 | |
| 14. XII. | 11 Std. 35 Min. | — | — | 1570 | |
| 21. XII. | 11 Std. 15 Min. | — | — | 1285 | |
| 22. XII | 11 Std. 30 Min. | — | — | | |
| | 11 Std. 52 Min. | — | — | | |
| † ca. 5h | Sektion 6 Uhr | — | — | | |

Digitized by Google

Tabelle XLII.

Pyocyaneusinfektion. Kaninchen. Grofse Dosen intraperitoneal.

| Nr. | Zeiten | H | NH | |
|---|---|---|---|---|
| 314<br>6. II. | Kontrollle<br>1h 2 Agarröhrchen 24h Kultur intraperitoneal, 2h (n. 1 Stunde)<br>Exitus 3h 03'<br>Sektion sofort | —<br>—<br>— | —<br>+<br>+ | Nr. 314. 6. II. Mikroskopisch im Herzblut keine, in Leber und Milzsaft mäfsig zahlreiche Bakterien nachweisbar. Kultur aus Herzblut, Leber und Milz +. |
| 365<br>17. VI. | Kontrolle<br>12h 20' 2 Röhrchen 24h Agarkultur intraperitoneal, 1h 45'<br>Exsudat 2h 28'<br>Sektion sofort | —<br>Serum gelblich stärker als die Kontrolle ± ?<br>— | —<br>+<br>+ | |
| 366<br>17. VI. | Kontrolle<br>Um 12h 20' Infektion wie bei Nr. 365<br>Exitus 1h 19'<br>Sektion sofort | —<br>— | —<br>+ | |
| 304<br>1. II. | Kontrolle<br>12h 15' Agarkultur intraperitoneal<br>1h 15'<br>Lebte noch um 2h, † gefunden 3h 15'<br>Sektion 5h | —<br>—<br>+ | —<br>+<br>— | |

Wir haben gesehen, dafs man bei subkutaner oder intraperitonealer Einverleibung entsprechender Mengen von Agarkulturen des Bazillus pyocyaneus beim Kaninchen eine Alteration der Erythrozyten bewirken kann. Zur Erklärung des Zustandekommens der Blutschädigung können wir verschiedene Momente heranziehen.

Konform dem allgemein theoretischen Grundsatz, den wir im Laufe unserer Untersuchungen aufgestellt haben, könnten wir auch hier annehmen, dafs von seiten der Bakterien im Tierkörper ein Lysin gebildet und von den Erythrozyten gebunden wird. Aber wenn wir berücksichtigen, dafs in den auf Tabelle XLII verzeichneten Fällen der Tod (Toxinwirkung) innerhalb von wenigen Stunden eintrat, so können wir uns der

Annahme nicht verschliefsen, dafs wohl auch ausgelaugte Endotoxine, mit hämolytischer Fähigkeit begabt, bezüglich der Hämolyse eine Rolle spielen könnten.

Wir können dieses Kapitel nicht schliefsen, ohne auf einen Einwand zu kommen, den man uns mit unseren eigenen Worten vielleicht machen wollte. Da wir bei Besprechung der Reagensglasversuche mit Hinsicht auf die starke Alkalibildung in Pyocyaneuskulturen kein grofses Vertrauen in die wirkliche Existenz des Pyocyanolysins gesetzt haben, könnte es verwundern, dafs wir von Lysinproduktion im Organismus reden. Wir halten es aber durchaus nicht für ausgeschlossen, dafs Bakteriohämolysine mit pathogenen Bakterien im Reagensglas erzeugt werden können, während bei der Infektion mit dem betreffenden zugehörigen Mikroorganismus Hämolyse ausbleibt und umgekehrt. Auch die bekannte Tatsache, dafs man mit nicht pathogenen Bakterien Hämolysine erzeugen kann, spricht dafür, dafs Reagensglasversuch und Tierinfektion separat beurteilt werden müssen. Die weiter unten bei Tetanus mitgeteilten Erfahrungen werden einen weiteren Beweisgrund für die Richtigkeit dieser Ansicht bilden.

### V. Bazillus der Hühnercholera.

Pasteur hat im Jahre 1880 als Erster den Nachweis geliefert, dafs Bakterien unter Umständen lösliche giftige Stoffwechselprodukte absondern und zwar gelang es ihm mit Filtraten von Bouillonkulturen der Hühnercholera bei Hühnern einen Zustand der Schlafsucht hervorzurufen.

Calamida (44) hat im vorigen Jahre die Bakterien der Hühnercholera auf ihr hämolytisches Vermögen im Reagensglasversuch geprüft. Die Filtrate von Bouillonkulturen zeigten hämolytische Wirkung auf die Blutkörperchen des Kaninchens, des Meerschweinchens und des Huhnes. Die Tiere sind nach dem Grade der Empfindlichkeit in absteigender Richtung angeführt. Eine toxische Wirkung seines Hämolysins konnte Calamida

nicht erweisen, ebensowenig fand sich ein Leukozidin in den Kulturfiltraten vor.

Wir untersuchten zunächst die Maus auf ihr Verhalten bei der Hühnercholerainfektion.

Eine subkutane Infektion mit einer Öse Agarkultur tötete innerhalb von 17 Stunden. Die Sektion wurde 4 Stunden post mortem vorgenommen. Das Serum zeigte sich rötlich. Eine Wiederholung des Versuches ergab eine Bestätigung des ersten. Wir können also von der Maus zumindest sagen, dafs bei derselben eine Nachhämolyse konstatiert wurde.

Als nächstes Versuchstier wählten wir das Huhn in der Annahme, dafs dieses für die Infektion so empfängliche Tier ein ausgezeichnetes Objekt für unsere Untersuchungen abgeben werde. Unsere a priori wohl berechtigte Annahme erwies sich als trügerisch. Die in den folgenden Tabellen niedergelegten Erfahrungen zeigen deutlich, dafs konstante Resultate beim Huhne nicht zu erlangen waren.

Bisher gewohnt, bei unseren Untersuchungen einen strengen Mafsstab anzulegen und prinzipiell nur solche Proben als hämolytisch zu bezeichnen, welche einen ganz einwandsfreien Befund hinsichtlich ihrer Serumfärbung darboten, kamen wir bei der Beurteilung der Resultate beim Huhne mitunter in recht arge Verlegenheit.

Betrachten wir zunächst Tabelle XLIII Nr. V. Das Tier erlag der Infektion innerhalb 24 Stunden, und wir konnten im Momente des Verendens noch rasch eine Blutentnahme machen. Das Serum erwies sich schwach weinrot, liefs also auf eine Lösung von Erythrozyten bei der Hühnercholerainjektion schliefsen, ein Resultat, das wir eigentlich von vornherein erwartet hatten. Wir liefsen das Tier bei Zimmertemperatur bis zum nächsten Tage liegen und waren sehr verwundert, bei der Sektion keineswegs eine Verstärkung des Farbentones zu finden. Wir hatten doch annehmen zu müssen geglaubt, dafs eine Schädigung der Erythrozyten in reichem Mafse erfolgt sei und eine intensive Färbung des Serums sich nun als Nachhämolyse zeigen müsse.

Der zweite in derselben Tabelle verzeichnete Fall Nr. 289 ergab ein gänzlich anderes Resultat[1]). Hier sezierten wir, eine Blutentnahme in extremis war nicht vorgenommen worden, das Tier sofort nach dem Tode; das Serum zeigte sich diesmal gelb, von einem rötlichen Tone keine Spur. Die zur Konstatierung der Nachhämolyse aber am nächsten Tage zentrifugierten Proben zeigten uns purpurrotes Serum.

Tabelle XLIII.

Infektion mit Hühnercholera beim Huhne

| Datum | Zeiten | H | NH | Bakteriolog. Befund | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | mikroskopisch | Agarstrich |
| 1. XII. | Kontrolle | farblos | | | |
| Infektion | 6h p. m | | | | |
| 2. XII. | 1h 15' | Stich ins Gelbe | 17h nach dem Tode | | |
| | 4h | do. | nntersnchte | | |
| | 5h 45' | do. | Proben zeigen das | | |
| | 6h | do | Serum nicht | | |
| Nr. V | 6h 10' | do. | wesentlich röter | | |
| | 6h 25' | do. | als zur Zeit des | | |
| | † 6h 28' | schwach weinrot | Todes | + | + |
| 15 VII. | Kontrolle | farblos | | | |
| Infektion | 6h p. m. | | | | |
| 16. VII. | † 10h 45' | | | | |
| Nr. 289 | Sektion sofort | gelb | purpurrot | + | + |

Zwischen diesen beiden Fällen, welche wir absichtlich als Extreme aus unseren Protokollen zur Wiedergabe gewählt haben, gibt es nun eine Menge von Zwischenstnfen. Wir haben in Tabelle XLIV eine Reihe von Befunden bei der Hühnercholera des Huhnes zusammengefafst. Die genaue Angabe der Zeit der Infektion, die ungefähre Angabe des Eintrittes des Todes sowie die Angabe der Zeit der Sektion sind wohl nötig, um ein Urteil zu gewinnen, ob eine Nachlösung der Blutkörperchen eingetreten oder ausgeblieben sei. Ein eigentlich in jeder Hinsicht sowohl was Hämolyse als auch was Nachhämo-

[1]) Erst nach nnserem Vortrag in Kassel 1903 beobachtet worden.

lyse anbelangt, negativer Fall ist Nr. 18. Trotzdem hier die Sektion mehrere Stunden nach dem Tode vorgenommen worden war, hatte das Serum nur eine leicht gelbliche Färbung, die wir nicht recht als hämolytisch zu bezeichnen uns getrauen würden, eine Rotfärbung war auch nach weiteren 24 Stunden nicht zu bemerken.

Tabelle XLIV.

Huhn. Infektion mit Hühnercholera.

| Nr. | Zeit der Infektion | Tod | Zeit der Sektion | Farbe des Serums bei der Sektion | Nach weiteren 24 Stunden |
|---|---|---|---|---|---|
| I | 13. XI. 4h p. m. | i.d.Nacht zum 14.XI. | 14. XI 4h 30' p. m. | sehr schwach rötlich | — |
| II | 20. XI. 12h | » » » 21 XI. | 21. XI 12h 30' | bräunlich | — |
| III | 27. XI. 5h 45' | » » » 29.XI. | 29. XI 11h | rötlichgelb | — |
| IV | 1. XII. 6h p. m. | » » » 3.XII. | 3. XII. 12h 30' | schwach weinrot | — |
| V | 1. XII. 6h p. m. | 2. XII. 6h 28' | 3. XII. 11h 30' | rötlichbräunlich | — |
| 132 | 3. VIII. 6h 30' | i.d. Nacht z. 7.VIII. | 7. VIII. 11h 30' | gelbbräunl. | gelbbräunl. |
| 133 | do. | do. | 7. VIII. 11h 45' | gelbbräunl. | gelbbräunl. |
| 134 | do. | 5.VIII.zw 7u 10h V. | 5. VIII. 12h | rötlichbraun | rötlichbraun |
| 148 | 20. VIII 12h | i.d. Nacht z 21.VIII. | 21. VIII. 1h 15' | leicht gelbl. | leicht gelbl. |
| 289 | 15. VII 6h p. m. | 16. VII. 10h 45' | 16. VII. 10h 45' | gelb | purpurrot |

Angenommen, dafs die Blutkörperchen des Huhnes in den Fällen, in welchen eine Färbung des Serums zweifellos konstatiert wurde, durch im Körper von seiten der Hühnercholerabakterien produziertes Lysin geschädigt wurden, so wäre es nicht uninteressant, die Frage zu studieren, ob der Grund des Ausbleibens dieses Phänomens darin zu suchen sei, dafs mitunter vielleicht kein Lysin produziert wurde oder aber, ob nicht etwa manchmal das Hühnerblut einen Antikörper enthält, welcher das Lysin paralysiert. Eins aber scheint uns schon jetzt sicher, dafs bei der tödlichen Hühnercholerainjektion des Huhnes die Schädigung der roten Blutzellen eine sehr geringe Rolle zu spielen scheint, wenigstens insofern, als der Nachweis mit unserer Methode möglich ist.

Digitized by Google

Unsere nun mit der Taube angestellten Versuche haben dieselben, wenn nicht noch ungenauere Resultate ergeben. Das bei der Sektion mitunter erst Stunden nach dem Tode gewonnene Serum zeigte sich in zwei Fällen durchaus von gleicher Farbe, wie die Kontrolle des normalen Tieres, liefs also durchaus keine Lösung der Blutkörperchen erkennen, in einem Falle war ein geringerer Grad von Nachhämolyse zu konstatieren.

Tabelle XLV.

Taube. Infektion mit Hühnercholera.

| Nr. | Zeit der Infektion | Farbe des normalen Serums | Tod | Zeit der Sektion | Farbe des Serums | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | bei der Sektion | 24 Stunden später |
| 140 | 7. VIII. 1h 20' | dunkelgelb | in d. Nacht z. 8. VIII. | 8. VIII. 11h 30' | dunkelgelb [1] | dunkelgelb [1] |
| 143 | 18. VIII. 12h | gelbbräunlich | 19. VIII. 7h p. m. | 19. VIII. 7h p. m. | gelbbräunlich [1] | gelbbräunlich [1] |
| 144 | 20. VIII. 12h | gelbbräunlich | in d. Nacht z. 21. VIII. | 21. VIII. 12h 45' | bräunlichrot | himbeerrot |

Es scheinen sich die kernhaltigen Blutkörperchen der Vögel durchaus anders zu verhalten als die kernlosen Erythrozyten der Säuger, denn, wie wir im folgenden sehen werden, geben Meerschweinchen und Kaninchen bei der Hühnercholerainfektion durchaus befriedigende und glatte Versuchsresultate.

Wir fanden bei Sektionen von Kaninchen, welche einige Zeit nach dem Tode vorgenommen worden waren, immer das Serum purpurrot gefärbt, also war Hämoglobin in beträchtlicher Menge ausgetreten. Wenn wir aber die Sektion unmittelbar nach eingetretenem Tode vornehmen, finden wir keine Färbung des Serums beim Sektionsblute, also keine Hämoglobinämie, wohl aber eine äufserst starke Nachhämolyse.

Ein Hase erhält um 1 Uhr mittags 2 ccm einer mitteldichten Aufschwemmung Agarkultur intraperitoneal. Nach wenigen Stunden erscheint er schwer krank und geht um 5 Uhr 52 Min. zugrunde. Bei der sofort vorgenommenen Sektion zeigt sich viel helles Exsudat im Pleuraraume. Mikroskopisch sind im Herzblut und Brustexsudat ziemlich zahlreiche, in der

1) Farbe genau wie die der Kontrolle.

Leber massenhafte Hühnercholerabakterien nachweisbar. Die Kultur ergibt aus Herzblut, Brustexsudat, Leber und Milz Reinkulturen von Hühnercholera.

Das Serum ist fast farblos, die am nächsten Tage zentrifugierte Parallelprobe purpurrot.

Auch das Meerschweinchen zeigte bei der Hühnercholerainfektion Hämolyse. Ein junges Tier, das innerhalb von 48 Stunden der Injektion erlegen war, zeigte bei der Sektion — das Tier war in der Nacht gestorben und wurde Vormittag seziert — himbeerfarbenes Serum, das nach weiteren 24 Stunden purpurrot war. Ein zweites, altes Tier, das abends 6 Uhr subkutan infiziert wurde, war am nächsten Morgen 8 Uhr 30 Min. noch am Leben, starb zwischen 9 Uhr 30 Min. und 10 Uhr. Bei der um 11 Uhr vorgenommenen Sektion zeigte sich das Serum bräunlich, am nächsten Tage ziegelrot.

Bei Infektionen mit Hühnercholerabakterien zeigten Mäuse und Meerschweinchen bei der einige Zeit nach dem Tode vorgenommenen Sektion Hämolyse. Kaninchen, sofort nach dem Tode untersucht, lassen Hämolyse bzw. Hämoglobinämie nicht erkennen, doch tritt eine intensive Nachhämolyse auf. Bei Tauben und Hühnern ist wohl Hämolyse und Nachhämolyse beobachtet worden, doch ist eine Konstanz dieser Erscheinungen keineswegs zu beobachten gewesen; neben vereinzelten Fällen mit zweifellos positivem Resultate finden sich solche von ausgesprochen negativem, ein eindeutiger Befund ist also bei Huhn und Taube nicht zu verzeichnen.

## VI. Tetanus.

Ehrlich (5) hat 1898 in Kulturen des Tetanusbacillus einen Körper gefunden, der imstande war, die roten Blutkörperchen mancher Tiere im Reagensglas zu lösen. Er hat gleichzeitig nachgewiesen, dafs das Tetanolysin prinzipiell verschieden sei von der die Krämpfe bewirkenden Komponente des Tetanusgiftes, von dem Tetanospasmin. Der Nachweis wurde erbracht durch Bindungsversuche mit roten Blutzellen, bei denen das

Lysin an die Erythrozyten gebunden wurde. Die nun resentierende Flüssigkeit hatte kein Lösungsvermögen mehr gegenüber den Blutkörperchen, aber die toxische Wirkung war erhalten geblieben. Aufserdem gelang es Ehrlich auch zu zeigen, dafs man für jede der beiden Giftkomponenten für das Lysin und das Spasmin je ein spezifisches Antitoxin darstellen könne.

Man hat versucht, der Wirkung des Tetanolysins neben der des Tetanospasmins bei der Tetanuserkrankung auch eine Rolle zuzuschreiben, vor allem wollte man die Tetanuskachexie durch den Einflufs des Tetanolysins erklären, doch hat diese Annahme keine Freunde gefunden. In diesem negativen Sinne deutet auch v. Lingelsheim die Versuche von Miyamoto[1]), welcher imstande war, mit tetanolysinfreien Filtraten den Zustand der Tetanuskachexie hervorzurufen.

Durch Blutuntersuchungen bei an Tetanus erkrankten Kaninchen haben wir getrachtet, ein eigenes Urteil über diese Frage zu gewinnen.

Wir haben zuerst ein Kaninchen durch Einverleibung von tetanusbazillenhaltiger Gartenerde tetanisch gemacht, als sich dann im Eiter der Infektionsstelle reichliche Tetanusbazillen mikroskopisch nachweisen liefsen, mit dem Eiter kleine Wattebäuschchen getränkt und diese als Infektionsmaterial für weitere Versuche verwendet. Allerdings ist hierbei zu bedenken, dafs wir es in diesen Fällen nicht mit einer reinen Infektion mit Tetanusbazillen zu tun hatten, also die Möglichkeit zu beachten war, dafs positive Ergebnisse (Hämolyse oder Nachhämolyse) durch gleichzeitig eingebrachte Hilfsbakterien verursacht werden konnten.

Bei dem mit Gartenerde infizierten Kaninchen (Tab. XLVI Nr. 114) fanden wir vor Ausbruch der tetanischen Symptome schon am Tage nach der Infektion Nachhämolyse, auch am zweiten Tage dasselbe Symptom; am dritten Tage konnten wir nur mehr eine sehr zweifelhafte (±?) Nachhämolyse beobachten,

1) Zit. nach v. Lingelsheim, Tetanus im Handbuch von Kolle und Wassermann.

die Untersuchung des bei der Sektion gewonnenen Blutes liefs jeden Anhaltspunkt für eine zu dieser Zeit bestehende Schädigung der Erythrozyten vermissen. Die aus Herzblut, Leber und Milzsaft angelegten aeroben Kulturen erwiesen sich als steril, eine septikämische Infektion von aeroben Bakterien war also nicht erfolgt. Wir nehmen an, dafs in dem erwähnten Falle irgendwelche Bakterien aeroben Charakters im Anfange der Infektion für die Schädigung der roten Blutkörperchen verantwortlich zu machen sind, dafs sie aber am letzten Tage noch irgend eine nennenswerte Rolle gespielt hätten, dafür liegt kein Grund vor. Diese Verhältnisse werden nun noch viel klarer, wenn wir Fall 123 der gleichen Tabelle betrachten. Hier kam es kaum zu einer sicher nachweisbaren Schädigung der Erythrozyten, wir können nur eine zweifelhafte Nachhämolyse beobachten, die bald gänzlich verschwindet. Die letzten Blutentnahmen vor dem Tode und das Sektionsblut lassen wiederum Färbungen des Blutserums vermissen, die aeroben Kulturen bleiben steril. Den gleichen Verhältnissen begegnen wir in dem dritten mitgeteilten Falle Nr. 124. Wir haben also keinen Grund bei der Tetanusinfektion irgendwelche Schädigungen, die durch ein etwa im Tierkörper gebildetes Tetanolysin hervorgerufen sein könnten, anzunehmen, wenigstens insoweit unsere Methode uns ein Urteil gestattet.

(Siehe Tabelle XLVI auf S. 281.)

Um vor falschen Schlüssen hinsichtlich beobachteter Hämolyse zu warnen, mag noch der in Tabelle XLVII verzeichnete Fall kurz besprochen werden. Hier sehen wir ganz ähnlich, wie in den anderen Fällen Nachhämolyse auftreten. Bei der Sektion finden wir aber diesmal das Serum purpurrot gefärbt, ein Befund, der uns leicht irreführen könnte, wenn wir nicht imstande wären, durch den Ausfall der Kultur zu beweisen, dafs hier offenbar ein septikämischer Erreger Hämolyse und Tod herbeigeführt hatte. Das gefundene Stäbchen verhielt sich sehr ähnlich einem von Kolb[1]) beschriebenen Bakterium.

1) Atlas von Lehmann und Neumann, 1896, S. 194.

Tabelle XLVI.

Tetanusinfektion beim Kaninchen (typisch).

| | | H | NH | Kultur aerob | Kultur anaerob |
|---|---|---|---|---|---|
| Nr. 114 [1] | | | | | |
| 16. VII. | Kontrolle | — | — | | |
| 7h 30′ 1/2 g Tetanuserde subkutan | | | | | |
| 17. VII. | 5h 30′ | — | + | Herzblut, Leber, Milz: steril | Tetanus |
| 18. VII. | 10h 30′ [2] | — | + | | |
| | 5h 30′ | — | + | | |
| 19. VII. | 10h 30′ | — | ± ? | | |
| Exitus | 5h 10′ | | | | |
| Sektion sofort | | — | — | | |
| Nr. 123 [1] | | | | | |
| 21. VII. | Kontrolle | — | — | | |
| 11h 35′ Tetanuseiterwatte-bäuschchen subkutan | | | | | |
| | 6h | — | — | | |
| 22. VII. | 11h 30′ | — | ± ? | Herzblut, Leber: steril | Tetanus |
| | 7h | — | ± ? | | |
| 23. VII. | 1h [3] | — | ± ? | | |
| | 5h 30′ | — | — | | |
| 24. VII. | 11h 40′ | — | — | | |
| 11h 43′ | Exitus | | | | |
| Sektion sofort | | — | — | | |
| Nr. 124 | | | | | |
| 22. VII. | Kontrolle | — | — | | |
| 6h 30′ Infektion wie Nr. 123 | | | | | |
| 23. VII. | 4h 30′ | — | + | Leber, Herzblut: steril | Tetanus |
| 24. VII. | 6h 30′ [2] | — | — | | |
| 6h 50′ | Exitus | | | | |
| Sektion sofort | | — | — | | |

Die tetanischen Symptome waren hier nicht zu vollständiger Entwicklung gekommen; offenbar hatte das der Gruppe der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie angehörige Stäbchen in seiner Wirkung den Tetanustod sozusagen überholt. Es mufs also zum strengen Postulat für andere Untersucher gemacht

1) Typischer Tetanus.

2) Vgl. v. Sagasser und Posselt, Zur Frage der Seroguostik des Tetanus. Zeitschr. f. Heilkunde, 1905.

werden, stets auch durch Anlegen aerober Kulturen aus den Organen des Versuchstieres eine etwaige Wirkung anderer Bakterien zu kontrollieren.

Tabelle XLVII.

Tetanusinfektion beim Kaninchen (atypisch).

| | H | NH | Mikroskopischer Befund | Kultur | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | aerob | anaerob |
| 20 VII. | Kontrolle | — | — | | |
| 11h Vm. Einbringen eines mit Tetanuseiter getränkt Wattebäuschchens subkut. | | | | | |
| 21. VII. 11h 15′ | — | ± | Tetanusbaz. im Eiter der Infektionsstelle | | |
| 6h | — | ± | Zahlreiche Tetanusbazillen | | |
| 22. VII. 11h [1]) | — | + | | | |
| 6h 45′ | — | + | | | |
| 23. VII. Früh tot gefunden | | | | | |
| Sektion | + | | | Leber und Herz ein kurzes Stäbchen ähnlich dem Bact. haem. Kolb. Milz steril. | Tetanus |

Die Annahme, dafs vielleicht die bei der Mischinfektion, und das ist ja wohl der Tetanus in der Mehrzahl der Fälle, beteiligt gewesenen Bakterien eine Antikörperproduktion angeregt hätten, als deren Folge eine Neutralisation des vom Tetanusbazillus gebildeten Lysins gedacht werden sollte, scheint uns gezwungen, könnte aber eventuell mit unseren eigenen Versuchen gestützt werden. Bei Mischinfektionen kann nämlich Blutlösung ausbleiben trotz Beteiligung solcher Bakterien, die allein im Tierkörper verbreitet, Hämolyse hervorrufen (vgl. S. 287). Wir möchten aber doch nicht ohne experimentelle Gegenbeweise unsere Ansicht aufgeben, dafs bei der Tetanusinfektion des Kaninchens das Tetanolysin keine Rolle spielt. Jedenfalls sind die vorliegenden Versuche eine neuerliche Bestätigung dafür, dafs ein Parallelismus zwischen Reagensglasversuchen und Tierexperiment nur bedingungsweise und mit Vorsicht konstruiert werden darf.

1) Das der Infektionsstelle zunächst gelegene linke Hinterbein steif weggestreckt; allgemein tetanische Symptome nicht ausgesprochen.

## VII. Bacterium typhi.

E. Levy und P. Levy haben in Filtraten von schwach alkalischen Bouillonkulturen des Typhusbazillus ein Hämolysin für Hundeblutkörperchen nachgewiesen. Dieses Hämolysin war durch hohe Wärmegrade nicht inaktivierbar; es gehört also in die Gruppe der hitzebeständigen Bakteriohämolysine. Die genannten Forscher bedienten sich der von Neisser und Wechsberg angegebenen Methodik.

Die Frage, ob der Typhusbazillus für Tiere pathogen sei, wird uns gewöhnlich damit beantwortet, dafs wir bei Tieren wohl nicht mit Infektionen zu rechnen haben, welche der des Menschen etwa gleichwertig an die Seite gestellt werden könnten. Immerhin aber, und das ist für unsere Blutuntersuchungen das wichtigste, besteht die Ansicht zu Recht, dafs im Tierkörper eine Vermehrung der eingebrachten Typhusbazillen, wenn auch im beschränkten Mafse stattfinde; da bei der Typhusinfektion der Tiere ebenso wie bei der des Menschen für das Zustandekommen der eigentlichen Krankheitserscheinungen eine Resorption von Giftstoffen im allgemeinen verantwortlich gemacht wird, so gingen wir daran, auch bei Infektionen mit Typhusbazillen das Verhalten des Blutes von Meerschweinchen und Kaninchen zu studieren.

**Fall I. Meerschweinchen Nr. 210 erhält um 12 Uhr mittags ein halbes Röhrchen 24stündiger Agarkultur intraperitoneal. Am nächsten Tag 10 Uhr 15 Min. Exitus. Sektion sofort. Akute Peritonitis.**

**Mikroskopisch im Herzblute und Lebersaft keine Bakterien nachweisbar, im Bauchexsudat typhusähnliche Stäbchen in Reinkultur. Die Kultur ergab aus Herzblut, Lebersaft und Bauchexsudat nur Typhusbazillen.**

Das sofort nach der Entnahme zentrifugierte Blut zeigte keinerlei Färbung des Serums, da letzteres hier fast farblos ebenso wie die Kontrolle gewesen war. Das Serum der nach 24 Stunden zentrifugierten Parallelproben unterschied sich in keiner Weise von dem des Sektionsblutes.

Ein zweiter Fall, in welchem an Stelle der Agarkultur Bouillonkultur verwendet wurde, verlief rascher, indem das Tier schon 8 Stunden nach der Injektion starb. Auch hier war das

Serum bei der sofort vorgenommenen Sektion nicht gefärbt, ebensowenig war eine Nachhämolyse zu konstatieren.

Beim Kaninchen scheinen die Verhältnisse anders zu liegen als beim Meerschweinchen. In Tabelle XLVIII sehen wir einen Fall verzeichnet, dessen Sektion wir unmittelbar nach dem Tode machten. Hier konnten wir innerhalb von 7 Stunden nach erfolgter Infektion beim lebenden Tiere weder Hämolyse noch Nachhämolyse beobachten. Das Tier ging erst am 4. Tage zugrunde. Bei der Sektion fand sich eine ausgedehnte Peritonitis mit viel aber nicht blutigem Exsudate in Bauchhöhle und Pleuraraum. Mikroskopisch waren weder in den Exsudaten noch in Leber oder Milzsaft Bakterien nachweisbar. Die Kultur ergab Wachstum in dem vom Bauchexsudate angelegten Striche, die Kultur am Herzblut blieb steril; das mit Lebersaft beschickte Agarröhrchen liefs nur zwei Kolonien Typhus angeben. Das Serum des Sektionsblutes erwies sich als fast farblos, die am nächsten Tage zentrifugierten Proben zeigten ziegelrotes Serum.

Tabelle XLVIII.

Typhusinfektion beim Kaninchen (Nr. 367).

| | | H | NH |
|---|---|---|---|
| 17. VI. | Kontrolle | — | — |
| $12^h$ 25′ 10 ccm | Bouillonkultur intraperitoneal | | |
| | $1^h$ 50′ | — | — |
| | $7^h$ 30′ | — | — |
| † 21. VI. | $9^h$ 30′ | | |
| Sektion sofort | | — | + |

Ein zweiter akutest verlaufener Fall sei noch kurz angeführt. Kaninchen Nr. 214 hatte um 11 Uhr 30 Minuten 10 ccm Typhusbouillonkultur erhalten. Es wurde um 1 Uhr 15 Minuten tot noch warm und ohne Totenstarre gefunden, um 4 Uhr seziert. Hier zeigte sich das Serum braunrot gefärbt, eine Zunahme der Färbungsintensität war nach weiteren 24 Stunden nicht zu beobachten. In letzterem Falle ist es wohl zweifellos, dafs die Einverleibung von Stoffwechselprodukten, also eine

direkte Toxinvergiftung, den Tod herbeigeführt hat. Es lag für diesmal ja nicht in unserem Versuchsplane, zu konstatieren, inwieweit einverleibte Toxine eine Rolle bei der Hämolyse zu spielen pflegen, wir wollten in unseren vorliegenden Untersuchungen ja nur erheben, ob und wann bei Einverleibung von Infektionsmaterial Schädigungen der roten Blutzellen im Tierkörper auftreten.

Bei der Infektion mit Typhusbazillen zeigt das Meerschweinchen weder Hämoglobinämie noch Nachhämolyse. Das Kaninchen läfst ebenfalls Hämoglobinämie vermissen, zeigt jedoch intensive Nachhämolyse.

### VIII. Bacterium coli.

Auch von diesem Mikroorganismus ist ein Stoffwechselprodukt bekannt, welches hämolytische Eigenschaft besitzt. Es ist das Verdienst von Kayser [46], das Kolilysin studiert und beschrieben zu haben. Es gehört ebenso wie das Typhuslysin zu den hitzebeständigen Lysinen, es verträgt Siedehitze, ohne an Wirksamkeit einzubüfsen.

Bei Infektionen des Meerschweinchens mit Kolibazillen konnten wir nur konstatieren, dafs bei Tieren, welche einige Zeit nach dem Tode zur Autopsie gelangten, ausnahmslos das Serum braun, bräunlichrötlich oder rötlich gefärbt war. Es ist uns hier nicht gelungen, den Eintritt des Todes abzuwarten; die Zeiten schwankten so sehr, dafs Zeitbestimmungen selbst mit Opferung einer ganzen Nacht sich als trügerisch erwiesen und uns niemals Gelegenheit gegeben war, die Sektion unmittelbar nach erfolgtem Tode vorzunehmen.

Anders beim Kaninchen. Hier waren wir in der Lage, einige Sektionen gleich nach dem Exitus auszuführen und die Blutuntersuchung ergab, dafs das Serum zu dieser Zeit ungefärbt, dafs Hämoglobin in demselben nicht gelöst ist. Die nach 24 Stunden untersuchten Parallelproben zeigten Nachhämolyse. Tabelle XLIX verzeichnet zwei Fälle. Es gilt hier bezüglich der Toxinwirkung dasselbe, was wir bei der Typhusinfektion

erwähnt haben, nur fällt hier bei Nr. 361 auch noch die starke Wirkung gröfserer Mengen intraperitoneal eingebrachter Agarkulturen auf.

Tabelle XLIX.

Koliinfektion beim Kaninchen.

| | | H | NH |
|---|---|---|---|
| Nr. 361 | | | |
| 17. VI. | Kontrolle | — | — |
| 12h 15' zwei Agarröhrchen Kultur intraperitoneal | | | |
| | 1h 25' | — | — |
| † | 5h 05' | | |
| Sektion sofort | | — | + |
| Nr. 363 | | | |
| 17. VI. | Kontrolle | — | — |
| 12h 15' 5 ccm 48stünd. Bouillonkultur | | | |
| † | 1h 13' | | |
| Sektion sofort | | — | + |

Mit Bacterium coli infizierte Meerschweinchen zeigen bei der einige Zeit nach dem Tode vorgenommenen Sektion Hämolyse.

Kaninchen lassen zur Zeit des Todes keine Hämoglobinämie erkennen, jedoch ist die Schädigung der Erythrozyten in Form einer Nachhämolyse ausgesprochen.

### IX. Diplococcus pneumoniae Fränkel-Weichselbaum.

Wir haben bei der Tetanusinfektion zeigen können, dafs eine Schädigung der Erythrozyten bei dieser Erkrankung keine Rolle zu spielen pflegt, wenigstens insoweit der Tetanusbazillus allein in Betracht kommt. In gröfserer Zahl pflegt es zur Verbreitung des genannten Mikroorganismus im Blute und in den Organen im Sinne einer septikämischen Erkrankung nicht zu kommen, wenn auch das Vorkommen in Milz, Herzblut, Gehirn, Muskel und Unterhautzellgewebe entfernt von der Impfstelle

nach den Untersuchungen von Tizzoni, Zumpe uud v. Öttinger sowie v. Hibler einwandfrei nachgewiesen erscheint[1]).

Im Diplococcus pneumoniae F. W. seheu wir nun einen Typus von Bakterien repräsentiert, welcher trotz septikämischer Verbreitung in Blut und Organen eine Schädigung der roten Blutzellen nicht erkennen liefs.

Wir infizierten ein Kaninchen subkutan mit Sputum, welches normalerweise die typischen Diplokokken zu beherbergen pflegte. Das Tier starb am 3. Tage nach der Infektion und wurde sofort seziert. Insbesondere zahlreich waren hier die Bakterien im Herzblute zu fiuden. Blutproben, die aus dem Herzen und aus der Leber entnommen wurden, liefsen, weder sogleich noch nach 24 Stunden zentrifugiert, eine Färbung des Serums erkenuen. Es ist also bei der Iufektion des Kaninchens mit Diplokokkus Fränkel und Weichselbaum eine Lösung der Erythrozyten weder als Hämoglobinämie noch als Nachhämolyse konstatierbar gewesen.

Über die Toxinbildung des Diplokokkus Fränkel-Weichselbaum ist noch wenig Sicheres bekanut geworden; nach Weichselbaum ([47]) neigt man der Ansicht zu, dafs das spezifische Toxin an die lebende Bakterienzelle gebunden sei, also in die Gruppe der Endotoxine gehöre. Wenn wir dieser Auffassung Rechnung tragen, so wäre nach unseren Erfahrungen noch hinzuzufügen, dafs dieses Endotoxin des Diplokokkus im Verlaufe der Infektion beim Kaninchen keine hämolytische Endotoxinkomponente zu äufsern scheint, da Hämolyse im Tierversuch nicht auftrat.

## X. Über Hämolyse bei Mischinfektionen.

Der Bericht über unsere Erfahrungen bei Infektionen, welche durch einen einzigen Infektionserreger verursacht worden waren, soll nicht abgeschlossen werdeu, ohne auf das schwierige uud noch so wenig geklärte Kapitel der Mischinfektionen ein wenig Rücksicht genommen zu haben.

1) Zit. nach v. Lingelsheim, Tetanus im Handbuch von Kolle und Wassermann.

Wir hatten nicht die Absicht gehabt, den hier so kompliziert liegenden Verhältnissen experimentell näher zu treten, aber im Laufe der Untersuchungen haben sich ab und zu bei den Sektionen interessante Befunde ergeben, von denen der eine oder der andere noch in Kürze mitgeteilt werden soll.

Wir haben gelegentlich der Infektion mit Bazillenpyocyaneus (Kaninchen) gesehen, dafs eine Schädigung der Erythrocyten aufzutreten pflegt, welche wir stets als Nachhämolyse konstatieren konnten. Gelegentlich dieser Versuchsreihen beobachteten wir auch einen Fall (Tab. L) welcher — mit Pyocyaneus infiziert — im Sektionsblute die Nachhämolyse vermissen liefs. Da wir glücklicherweise gerade bei diesem Falle die einzelnen Entnahmen sowohl mikroskopisch als kulturell genau auf ihren Bakteriengehalt untersucht haben, so bot der Sektionsbefund mit den während des Lebens gemachten Beobachtungen zusammengehalten ein aufserordentlich instruktives Bild. Am Tage nach der Infektion, auch noch am zweiten Tage nachher, sehen wir Nachhämolyse auftreten — wohl als Folge der Pyocyaneusinfektion — weiterhin hört diese Erscheinung auf und das Sektionsblut zeigt nun ebenfalls einen hinsichtlich der Erythrocytenschädigung völlig negativen Befund. Die genaue bakteriologische Untersuchung aber zeigt uns, dafs wir im Blute und den Organen des ja unmittelbar nach dem Tode sezierten Tieres nicht weniger als dreierlei voneinander verschiedene Bakterienarten vertreten finden Einmal im Herzblute kurze dicke, nicht weiter bestimmte Stäbchen und Staphylokokken, in der Leber Bacillus Pyocyaneus und die erwähnten kurzen Stäbchen, in der Milz endlich wiederum das Stäbchen uud aufserdem noch Staphylokokken.

(Siehe Tabelle L auf S. 289.)

Das angeführte Beispiel dokumentiert uns wohl in eindringlicher Weise, dafs bei derartigen Untersuchungen die ausgiebigste Anwendung aller uns zur Verfügung stehenden bakteriologischen Behelfe iu den einzelnen Phasen der Infektion eine dringende Notwendigkeit ist, um zunächst einwandsfreie Resultate zu erhalten. Von diesen bis zum vollen Verständnis des Mechanismus

der Mischinfektion liegt ja leider noch ein weiter und verschlungener Weg. Hatten wir im eben beschriebenen Falle von Haus aus die Wirkung unseres Erregers auf die roten Blutkörperchen ja gekannt und die ausgebliebene vermifst, so lagen in einem anderen Versuche die Verhältnisse umgekehrt.

Tabelle I.

Mischinfektion bei ursprünglicher Infektion mit Bacillus pyocyanens (Kaninchen Nr. 89/III).

| | | H | NH | Bakteriologischer Blutbefund | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | mikroskopisch | Agarstrich |
| 16. VI. | Kontrolle | — | — | | |
| 5h 30′ | Agarkultur intraperitoneal | | | | |
| 17. VI. | 11h 30′ | — | ± ? | 0 | 2 Kolonien Pyocyaneus |
| 18. VI. | 12h 15′ | — | + | 0 | steril |
| | 7h | — | + | | |
| 19. VI. | 6h 30′ | — | — | 0 | Pyocyaneus rein |
| 20. VI | 11h 30′ | — | — | 0 | 1 Kolonie kurze dicke Stäbchen |
| † | 12h 42′ | | | | |
| Sektion sofort | | — | — | Herz, Leber, Milz: 0 | Herz: Kurze dicke Stäbch. + Staph.<br>Leber: 2 Kolonien Pyocyaneus + 12 Kolon. kurze dicke Stäbchen<br>Milz: Kurze dicke Stäbch. + Staph. |

Um bei einem Meerschweinchen Tetanus zu erzeugen, hatten wir demselben ein mit Tetanuseiter getränktes Wattebäuschchen subkutan eingebracht. Das Eiter war durch subkutane Impfung mit tetanushaltiger Gartenerde von einem Kaninchen gewonnen worden. Es war also natürlich, dafs dasselbe neben Tetanusbazillen auch noch andere Bakterien enthalten mufste. Das Tier starb in der auf den Infektionstag folgenden Nacht, ohne tetonische Symptome dargeboten zu haben, da wohl die Zeit zur Entwicklung derselben zu kurz gewesen war. Bei der Sektion nun fand sich eine ausgedehnte mit diffusen Blutungen durchsetzte ödematöse Infiltration der Brust- und Bauchmuskulatur, im Anschlusse an die Infektionsstelle sich ausbreitend. Mikroskopisch fanden sich an der Infektionsstelle die verschiedensten Formen von Bakterien neben Tetanusbazillen auch ferner an die

Bakterien des malignen Ödems erinnernd, im Ödem zahlreiche kurze plumpe Stäbcheu in Reinkultur.

Das Serum des Tieres zeigte weder bei der Sektion noch nach weiteren 24 Stunden irgend eine Verfärbung, also war eine Lösung der Erythrozyten mit Sicherheit auszuschliefsen.

Die bakteriologische Untersuchung des Ödemsaftes sowie der Organe wurde mit aeroben uud anaerohen Kulturmethoden vorgenommen. Die aerobe Kultivierung ergab das erwähnte plumpe Stähchen aus Ödemflüssigkeit, Herzblut und Leber in Reinkultur, während in den anaerohen von der Impfstelle und dem Muskelödem angelegten Kulturen aufser Tetanushazillen uoch verschiedene andere Bakterien wuchsen. Als wir nun eine Reinkultur des sonst nicht weiter bestimmten aeroben plumpen Stäbchens, das seinem Verhalten nach in die Gruppe der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie zu gehören schien, einem zweiten Meerschweinchen inokulierten, erlag dasselbe der Infektion innerhalb von 48 Stunden; die Blutuntersuchung ergab deutliche Hämolyse! Da nun ja diese Erscheinung bei dem anderen Meerschweinchen ausgeblieben war, so unterliegt es wohl keinem Zweifel, dafs bei der Mischinfektion sich Vorgänge abgespielt hatten, welche von der normalen Wirkung des in Reinkultur applizierten Stäbchens wesentlich abwichen, indem Hämolyse das eine Mal (Reinkultur) beobachtet, das audere Mal aber — Mischinfektion — vermifst wurde.

## Schlufswort.

Fassen wir die Resultate der vorstehenden Untersuchungen kurz zusammen, so haben wir hiusichtlich der durch Bakterieninfektionen (beim Kaninchen) bewirkten oder ausbleibenden Blutlösung, wenn wir Hämoglohinämie und Nachhämolyse in Betracht ziehen, drei grofse Gruppeu zu unterscheiden. Eine, bei der wir sofort nach dem Tode, also auch zur Zeit des Todes, keine Lösung von Erythrozyten, jedoch deren Schädigung als Nachhämolyse konstatieren können, während wir bei der zweiten unmittelbar nach dem Tode intensive Hämoglobinämie beobachten. Die dritte Gruppe umfafst jene Infektionen, bei denen

zur Zeit des Todes weder eine Hämoglobinämie noch auch Nachhämolyse nachzuweisen ist, bei denen also eine Schädigung der roten Blutzellen keine besondere Rolle zu spielen scheint.

Zu Gruppe I gehören die Infektionen mit Streptokokken, Bacillus pyocyaneus, Hühnercholera, Bacterium coli und Typhusbazillen. Gruppe II vertritt die Milzbrandinfektion. Gruppe III repräsentieren der Diplokokkus pneumoniae Fränkel und Weichselbaum und die Tetanusinfektion.

Die Staphylokokkeninfektionen teilen sich je nach ihrem Verlauf in Gruppe II oder III. In erstere gehören die hochakuten, in letztere die chronischen Fälle mit multipler Abscedierung. Ziehen wir aber die Grenzen noch enger und basieren wir die Einteilung nur auf Lösung oder Nichtlösung der Erythrozyten, ohne den Lösungsmodus zu spezialisieren, so können wir zwei Typen der Infektionen aufstellen, solche, in derem Verlaufe eine Bakterienwirkung auf die roten Blutzellen auftritt: hämolysierende und solche, in denen keine Wirkung sich äufsert, nichthämolysierende Infektionen.

Dem Wesen der Hämolyse seien noch einige Zeilen gewidmet.

Über die Konstitution jenes von Bakterien gelieferten Körpers, der im Reagensglase Erythrozyten löst, sind wir zurzeit noch völlig im Unklaren. Uns sagt die Bezeichnung Staphylolysin, Tetanolysin usw. nichts anderes, als dafs gewisse Bakterien Stoffe bilden, welche, in vitro präformiert, imstande sind, in vitro Erythrozyten zu lösen. Dafs manche dieser Stoffe, Tieren einverleibt, dieselbe Wirkung ausüben, konnten wir für das Staphylolysin zeigen, dafs aber durchaus nicht alle Bakterien, welche in vitro ein Hämolysin erzeugen, auch bei Infektionen im Tiere Blutkörperchen lösen, haben wir beim Tetanusbazillus gesehen. Bevor noch die moderne Forschung sich mit den Bakteriohämolysinen befafste, hatte man die Eigenschaft mancher Sera, heterogene Blutkörperchen zu lösen, studiert, aber trotz vieler dieses Gebiet bearbeitenden Untersuchungen sind die Beobachter heute noch über Wirkungsweise und Konstitution der Serumhämolysine nicht einig. Zwei Richtungen stehen sich gegenüber.

Buchner, Bordet, Ehrlich treten dafür ein, dafs rein chemische Vorgänge als Gründe für die Hämolyse im heterogenen Serum aufzufassen seien, während in neuester Zeit insbesondere v. Baumgarten (49) den Standpunkt vertritt, »dafs osmotische Prozesse eine mafsgebende Rolle bei Hämolyse im heterogenen resp. Immunserum spieleu«.

Wir haben dieses Gebiet in unserer Arbeit nicht betreten, denn die weuigen Versuche, in denen es sich darum handelte, nachzuweisen, ob z. B. Milzbrandkaninchenserum normale Kaninchenerythrozyten löse, gehören ja nicht hierher, die Aufgabe, die wir uns gestellt hatten, ist ja eigentlich mit dem Nachweise und der Aufstellung der grofsen Hauptgruppen »hämolysierende und nicht hämolysierende Infektionen« gelöst, aber die Gründe, die für und wider bei der Serumhämolyse geltend gemacht werden, fallen ja möglicherweise auch bei der Bakteriohämolyse und den Bakteriohämolysinen ins Gewicht, und von diesem Standpunkte aus möchten wir ein oder das audere Versuchsresultat noch einmal Revue passieren lassen.

Der wohl interessauteste Befund bei sämtlichen Infektionen ist die intensive Hämoglobinämie, die wir zur Zeit des Todes beim Milzbrandkaninchen fanden. Schon einige Zeit vor dem Tode zeigen uns Proben mit erfolgter Nachhämolyse an, dafs eine Schädiguug der Erythrozyten eingetreten sei.

Handelt es sich hier um Giftbindung oder um Anisotonie des Mediums, iu dem die roten Blutzellen sich befinden, also des Serums?

Von dem Gedanken ausgehend, dafs vielleicht im Blute durch die zirkulierenden Bakterien ein Abbau des Kochsalzes erfolge und dadurch eine Hypotonie des Serums bedingt sein könne, haben wir ja oben den Kochsalzgehalt in verschiedenen Phasen der Infektion bestimmt, aber keine Verminderung desselben gefunden. Doch da wäre immer noch die Möglichkeit gegeben, dafs bei normalem Kochsalzgehalt der Gesamtsalzgehalt des Blutes, das wir ja nicht bestimmt haben, verändert, herabgesetzt worden sein konnte, und trotz normalen NaCl-Gehaltes eine Hypo-, event. eine Hypertonie des Plasmas bestanden haben

könne. Dagegen sprechen deutlich die Versuche mit Milzbrandkaninchenserum und normalen Erythrozyten, die hätten gelöst werden müssen, wenn das Serum nicht isotonisch gewesen wäre. Eine Anisotonie des Mediums hat also hier keine Rolle gespielt. Wir wenden uns also der zweiten der herrschenden Ansichten zu, der Theorie der Giftbindung. Direkte Beweise hierfür lassen sich begreiflicherweise schwer geben, so lange wir keine Methoden des chemischen Nachweises besitzen, wir werden immer nur auf Analogieschlüsse angewiesen sein und auch negative Momente, wie der Nachweis, dafs mangelnde Isotonie für eintretende Hämolyse nicht verantwortlich zu machen gewesen sei, werden die Gifttheorie zu stützen haben. Zur Ansicht Ehrlichs, dafs wir uns die Giftwirkung im Erwirken der Durchlässigkeit der diffusionsverhindernden Membran der Erythrozyten vorzustellen haben, liefert Pascucci [50] in einer Arbeit aus dem Hofmeisterschen Institute einen instruktiven Beitrag. Er konnte zeigen, dafs Blutgifte ganz verschiedenen Ursprungs und Charakters (Saponin, Solanin, Kobragift und Tetauotoxin) Lecithin-Cholesterinmembranen alterieren und permeabel machen. Dieser Vorgang lief um so rascher ab, je geringer der Cholesteringehalt der Membran bemessen wurde. Nun tritt Pascucci auf Grund des chemisch-physikalischen Verhaltens der Erythrozyten dafür ein, dafs wir uns die Blutkörperchen nicht mit einem »schwammartig aufgebauten protoplasmatischen Gerüst« ausgestattet zu denken haben, sondern als bläschenförmig gebaute Körper, deren Membran das Stroma bildet, vorstellen sollen. Nach den Ausführungen desselben Beobachters besteht nahezu ein Drittel der Trockensubstanz der Stromata aus Lecithin und Cholesterin, und Pascucci wirft die Frage auf, ob es nicht unter den geschilderten Verhältnissen gestattet sei, anzunehmen, »dafs die Wirkung der blutscheibenlösenden Gifte nicht ganz oder doch in erster Reihe durch chemische Einwirkung, auf die die Membran zusammensetzenden Stoffe zustande kommt«. Die Ansicht hat gewifs etwas Bestechendes. Ob sie für die Infektion im Tierkörper geltend gemacht werden kann, mufs erst durch entsprechende Versuche erwiesen werden, doch scheint uns die

Auffassung Pascuccis mit unserer Ansicht vereinbar, dafs bei Infektionen das die roten Blutzellen schädigende Agens, das hypothetische Bakteriohämolysin (etwa nach Pascucci eine Lecithin und Cholesterin lösende Substanz) von seiten der Bakterien im Tierkörper produziert werde.

## Literatur.


1. R. Koch, Konferenz zur Erörterung der Cholerafrage. Berliner klin. Wochenschr. 1884, Nr. 32.
2. Bitter, Über die Fermentausscheidung des Kochschen Vibrio der Cholera asiatica. Arch. f. Hygiene, Bd. V, 1886.
3. Van de Velde, Étude sur le mécanisme de la virulence dn staphylocoque pyogène. La Cellule, X, p. 403.
4. Bail, Über leukozide Substanzen in den Stoffwechselprodukten des Staphylokokkus pyogenes aureus. Archiv f. Hygiene, Bd. 30 u. 32.
5. Ehrlich, Berliner klin. Wochenschr. 1898, Nr. 12.
6. Madsen, Über Tetanolysin. Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 32, 1899.
7. Kraus und Ludwig, Über Bakterienhämolysine und Antihämolysine. Wiener klin. Wochenschr., 1902, S. 382.
8. Schur, Über Hämolyse. Hofmeisters Beiträge 1902.
9. v. Limbeck, Grundrifs einer klinischen Pathologie des Blutes. 1896, Fischer, Jena.
10. Nolf, Annales de l'nstitut Pasteur, 1900.
11. Löwit, Experimentelle Studien zur intravasalen Bakteriolyse. Sitzungsberichte der Kaiserl. Akademie der Wissenschaften in Wien, mathematisch-naturwissenschaftl. Klasse. Bd. CXIII, 1904.
12. Abderhalden, Zur quantitativen vergleichenden Analyse des Blutes. Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiolog. Chemie. Bd. 25, 1898.
13. Hans Sachs, Zur Kenntnis des Kreuzspinnengiftes. Hofmeisters Beiträge 1902.
14. Neisser und Wechsberg, Über das Staphylotoxin. Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 36, 1901.
15. Meinicke, Über die Hämolysine der choleraähnlichen Vibrionen. Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 50, 1905.
16. Kraus und Clairmont, Über Hämolysine und Antihämolysine. Wiener klin. Wochenschr. 1900.
17. Bajardi, Sulla presenza di proprietà emoliticbe dei filtrati di brodoculture degli stafilococbi etc. Annali d'Igiene sperimentale 1901. Ref. im Zentralblatt für Bakteriologie, Referate 1902, Bd. 31.
18. van Durme, Über Staphylokokken und Staphylolysine. Hygienische Rundschau 1903.

19. Kntscher und Konrich, Untersuchungen über die Beziehnngen von Hämolysinbildung nnd Agglutinabilität der Staphylokokken. Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 48, 1904.
20. Fränkel nnd Banmann, Über Hämolysinhildung und Agglutination der Staphylokokken. Münchener med. Wochenschr. 1905, Nr. 20.
21. Bordet, Contrihntion à l'étude du Serum antistreptococcique. Annales de l'Institut Pastenr, 1897.
22. v Lingelsheim, Aetiologie und Therapie der Streptokokkeninfektionen. v. Behrings Beiträge 1900.
23. Besredka, De l'Hémolysine streptococciqne. Annales de l'Institut Pastenr. Tome 15. 1901.
24. Schlesinger, Experimentelle Untersuchungen über das Hämolysin der Streptokokken. Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 44, 1903.
25. Neisser und Lipstein, Die Staphylokokken. Handbnch von Kolle und Wassermann.
26. Lnbenau, Hämolytische Fähigkeit einzelner pathogener Schizomyceten. Zentralhl. f. Bakteriologie, Bd. 30.
27. Aronson, Untersuchungen über Streptokokken- nnd Antistreptokokkenserum. Berliner klin. Wochenschr. 1902.
28. Meyer, Znr Einheit der Streptokokken. Berliner klin. Wochenschr. 1902.
29. Breton, De l'hémolysine prodnite par le streptocoque dans l'organisme infecté, nnd Sur l'ohtention d'une antihémolysine streptococcique. Ref. i. Zentralhl. f. Bakteriol., Bd. 34, S. 526.
30. Simon, Untersuchungen über die Gifte der Streptokokken. Zentralhl. f. Bakteriol. Bd. 35.
31. Kerner, Experimenteller Beitrag zur Hämolyse und zur Agglutination der Streptokokken. Zentralhl. f. Bakteriol., Bd. 38, 1905.
32. Conradi, Znr Frage der Toxinhildnng bei den Milzbrandbakterien. Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 31, 1899.
33. Sclavo, Über die toxischen Lähmungen karbunkulöser Natur. Zentralbl. f. Bakteriol., Bd. 32, 1902.
34 Kionka, Blutgifte. Handbuch von Lnbarsch & Ostertag VII. 1900/1901.
35. Sohernheim, Milzbrand im Handhuch von Kolle und Wassermann.
36. Filehne, Weshalh erzeugt intravenöse Einhringung von Glyzerin weniger sicher Hämoglobinurie als subkutane? Virchows Archiv, Bd. 117.
37. Charrin, La maladie pyocyanique. Paris 1889.
38. Wassermann, Bacillus pyocyaneus. Handhuch von Kolle und Wassermann.
39. Bulloch und Hunter, Über Pyocyanolysin, eine hämolytische Snbstanz in Knlturen des Bacterium pyocyaneum. Zentralhlbl. f. Bakteriol. Bd. 28.
40. Weingeroff, Zur Kenntnis des Hämolysins des Bacillus pyocyanens. Zentralhl. f. Bakteriol. Bd. 29.
41. Margarete Breymann, Über die Stoffwechselprodukte des Bacillus pyocyanens. Zentralhl. f. Bakteriol, Bd. 31. Literatur.

42. Loew nnd Kozai, Über die Bildnng des Pyocyanolysins unter verschiedenen Bedingungen. Tokyo Imperial University. Vol. IV, Ref. i. Zentralbl. f. Bakteriol., Bd. 32.
43. Jordan, Über die Natur des Pyocyanolysins. Zentralbl. f. Bakteriol, Bd. 33.
44. Calamida, Das Hämolysin des Bazillus der Hühnercholera. Zentralbl. f. Bakteriol., Bd. 35.
45 E Levy und P. Levy, Über das Hämolysin des Typhnsbazillus. Zentralbl. f. Bakteriol., Bd. 30.
46. Kayser, Über Bakterienhämolysine, im Besonderen das Kolilysin. Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 42.
47. Weichselhaum, Diplococcus pnenmoniae im Handbuch von Kolle und Wassermann.
48. Marmorek, Die Arteinheit der für den Menschen pathogenen Streptokokken. Berliner klin. Wochenschr. 1902.
49. v. Baumgarten, Ergebnisse der osmologischen Forschung über Hämolyse in Zikel: Osmologische Diagnostik nnd Therapie. Berlin 1905.
50. Olinto Pascucci, Die Zusammensetzung des Blutscheihenstromes nnd die Hämolyse. Hofmeisters Beiträge 1905, Bd. 6.
51. v. Wunschheim, Über Hämolyse hei experimentellen Infektionen. Münchener med. Wochenschr., 1903, Nr. 26.
52. Derselbe, Verhandlungen der Gesellschaft deutscher Naturforscher und Ärzte. Kassel 1903.

247

# Weitere Erfahrungen über Aggressinimmunität gegen den Shiga-Kruseschen Dysenteriebazillus.

Von

Dr. **Yonetarō Kikuchi.**

(Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag. Vorstand: Prof. Hueppe.)

In einer vorläufigen Mitteilung (»Wiener kl. Wochenschrift« 1905, Nr. 17) wurde bereits über Versuche berichtet, vermittelst der Aggressine des Shiga-Kruseschen Dysenteriebazillus empfängliche Tiere aktiv und passiv zu immunisieren. Die Versuche sind seither weiter geführt worden, ohne noch mit völlig befriedigenden Resultaten abgeschlossen werden zu können. Da aber äufsere Umstände zu einer langen Unterbrechung zwingen, mögen die erzielten Ergebnisse hier mitgeteilt werden, besonders da sie bereits erkennen lassen, welche Verhältnisse besonders bei der Immunisierung gegen den Dysenteriebazillus und bei der eventuellen Herstellung eines Heilserums für den Menschen in Frage kommen können.

Der Shiga-Krusesche Dysenteriebazillus gehört seiner Wirkung im Tierversuche nach in die nächste Nähe des Choleravibrio, Typhus- und Kolonbazillus. Es handelt sich um die Gruppe der fakultativ invasiven oder Halbparasiten, deren Hauptkennzeichen in ihrer sehr geringen Aggressivität besteht. Sie vermögen erst in einer gewissen Anzahl von Individuen im Körper (der Bauchhöhle) geeigneter Lebewesen so viel Aggressivität aufzubringen, um sich reichlich zu vermehren. Auch dann aber

bleibt ihr Wachstum in der Hauptsache ein lokales, wesentlich nur auf die Infektionsstelle beschränktes, im Gegensatze zu den echten Parasiten, die nach dem Eindringen eines einzigen Individuums in den Körper denselben ohne Hemmung durchwachsen.

Es ist wohl kaum ein Zufall, dafs die typischen Vertreter der Halbparasiten, Cholera, Dysenterie und Typhusbazillen auch bei der natürlichen Infektion des Menschen, namentlich im Darme, zur ersten Entwicklung gelangen, wo sie unter saprophytischen Verhältnissen erst zu der nötigen Individuenzahl heranwachsen, um dann, nach Ausbildung der Aggressine mehr oder weniger oberflächlich ins Gewebe eindringend, Krankheit zu erzeugen.

Auch in bezug auf die nähere Wirkungsweise ergeben sich tiefgreifende Unterschiede zwischen echten und Halbparasiten. Während bei ersteren trotz ihrer unbegrenzten Vermehrung im ganzen Tierkörper nichts Deutliches von Giftbildung und Giftwirkung aufzufinden ist, und man sehr grofse Mengen toter Bazillen anwenden mufs, um Tiere zu vergiften, wenn dies überhaupt gelingt, ist bei letzteren die Vergiftung der Versuchstiere unmittelbar einleuchtend.

Es ist kaum zu bezweifeln, dafs die sehr leichte Auflösbarkeit der Halbparasiten durch Körpersäfte, wie auch aufserhalb des Organismus mit der Vergiftung in ursächlichem Zusammenhange steht. Anderseits wieder hängt die leichte Löslichkeit der Bakterien sicher mit der sehr leichten Entstehung hoher bakteriolytischer Eigenschaften des Blutes nach Vorbehandlung mit Halbparasiten zusammen. Im Gegensatze dazu sind echte Parasiten wenig lösungsfähig und wiederholte Einspritzung derselben im abgetöteten Zustande erzeugt keine oder nur geringe Anhäufung von bakteriolytischen und agglutinierenden Eigenschaften des Blutes.

Dazu kommt noch ein weiteres Merkmal in dem Verhalten gegen Leukozyten, worauf besonders in neuester Zeit geachtet wurde. Echte Parasiten, wie Hühnercholera, sind nach Versuchen von Weil[1]), vorausgesetzt, dafs keine künstliche Abschwächung

1) Archiv f. Hygiene, 2. Heft.

stattgefunden hat, der Phagozytose so gut wie nicht unterworfen[1]); ebenso wie bei Milzbrand können bei geringer intraperitonealer Infektion Leukozyten in beträchtlicher Zahl in die Bauchhöhle übertreten, ohne dafs Phagozytose zu beobachten wäre. Diese findet hingegen bei Halbparasiten stets statt, wenn nur nicht die Infektion eine derartige war (grofse Bazillenmenge, gleichzeitige Aggressineinspritzung), dafs Leukozyten ferngehalten wurden. Der Begriff der Virulenz hat mit diesem Verhältnisse wenig zu tun; ob ein Typhus- oder Dysenteriebazillus mit $^1/_{50}$ oder mit 5 Ösen tötet, stets findet bei Anwendung einfach oder wenig mehrfach tödlichen Dosen starke Hyperleukozytose und Phagozytose statt, und bei Verwendung von vielfach tödlichen Mengen bleiben Leukozyten bei den wenig wie bei den hochvirulenten aus; die wenigen, meist am Netze abgelagerten Zellen zeigen dennoch Phagozytose.

Es liegt also diesem abweichenden Verhalten gegen die Zellen wie gegen die Flüssigkeiten des Körpers eine vollkommene gegensätzliche Organisation von Halbparasiten und echten Parasiten zugrunde, und es ist klar, dafs diese Feststellungen auch auf das Vorgehen bei der aktiven Immunisierung und der Herstellung von Immunserum nicht ohne Einflufs bleiben können.

Wenn denselben im folgenden noch nicht überall Rechnung getragen ist, so liegt die Ursache darin, dafs diese Umstände erst im Laufe der Immunisierungsversuche von Prof. Bail mit Typhus und Cholera und der eigenen mit Dysenterie ermittelt wurden.

Aus den eben erwähnten Darlegungen geht hervor, dafs für die Erzielung einer aktiven Immunität zur Verhütung einer drohenden und für die Herstellung eines Serums zur Heilung einer bereits ausgebrochenen Krankheit verschiedene Wege eingeschlagen werden können.

Die aktive Immunisierung kann nach dem bisherigen Stande der Kenntnisse eine zweifache sein und entweder Bakteriolyse oder Antiaggressivität erzielen wollen. Mittels ersterer sollen

1) Vgl. Zilberberg und Zeliony, Annales de l'Institut Pasteur, 1901, S. 615.

sollen die Infektionserreger abgetödet werden, noch ehe sie sich im Körper in gefahrdrohender Weise vermehren können. Dafs dieses Ziel bei der intraperitonealen Impfung von Meerschweinchen verhältnismäfsig leicht und sicher erreicht werden kann, ist sicher bewiesen. Ob das, was für einen intraperitonealen Versuch gilt, auch auf die natürliche Menscheninfektion übertragen werden darf, ist aber fraglich. Denn zunächst hat Bail zeigen können, dafs die Abtötung von Typhusbazillen, die in der Meerschweinchenbauchhöhle relativ glatt und rasch erfolgt, schon innerhalb der Organe nicht in gleicher Weise sich sichtbar machen läfst; ob durch die bakteriolytische Fähigkeit des Blutes innerhalb des Darmlumens überhaupt eine Wirkung erzielt werden kann, mufs aber als sehr unsicher erscheinen. Die klinischen Erfahrungen von Stern, Korte und Steinberg, Jürgens, wonach trotz ausgebildeter, natürlich erworbener bakteriolytischer und agglutinierender Fähigkeiten Typhusrezidive nicht verhütet werden, sprechen nicht dafür. Da in neuerer Zeit durch Wright in England, durch das Institut für Infektionskrankheiten[1]) in Deutschland Menschenimpfungen zur Erzielung aktiver Immunität gegen Typhus angewendet worden sind, wird ihr Ergebnis abgewartet werden müssen. Für die Choleraimpfungen nach Haffkin, die Dysenterieimpfung von Shiga u. a. gilt das Gleiche.

Inzwischen mufs aber angesichts der erwähnten Bedenken das Bestreben berechtigt erscheinen, die zur Verfügung stehenden Impfmethoden durch Einführung und Erprobung der Aggressinimmunität zu vermehren. Ihr Prinzip weicht von der bakteriolytischen Immunisierung sehr beträchtlich ab.

Hier handelt es sich nicht so sehr um Abtötung der in den Körper bereits eingedrungenen Bakterien, die mindestens bei Typhus schon in den Organen und wohl ebenso im Darminhalt schwer zu erreichen sein dürfte. Ein direkter Angriff auf die Lebensfähigkeit der Infektionserreger wird hier gar nicht beabsichtigt, nur die Aggressivität derselben, d. h. die Ausschaltung

1) Klinisches Jahrbuch, Bd. XIV, Heft 2 (Gaffky, Kolle, Hetsch und Kutscher).

der natürlichen Schutzkräfte des Organismus soll aufgehoben werden.

Bail hat diese Immunisierung bereits mit der antitoxischen verglichen, welche sich ebenfalls nicht so sehr um die Erreger als um ihr Gift, also das eigentlich krankmachende Agens kümmert.

Für Halbparasiten nach Art des Dysenteriebazillus ist die Aggressivität aber die unerläfsliche Voraussetzung der Krankheit: denn nur die Ausbildung von Aggressinen ermöglicht es dem so labilen Bazillus im normalen Tierkörper bis zur krankheitserzeugenden Menge heranzuwachsen.

Gelingt es, durch passive oder aktive Immunisierung einen »antiaggressiven Körperzustand« herzustellen, so bleiben die Schutzkräfte des Organismus, die sonst gelähmt werden, tätig und beseitigen früher oder später die Krankheitserreger.

So einleuchtend diese Vorstellungsweise ist, so bedarf sie doch nach der Eigenart der halbparasitischen Dysenteriebazillen und den inzwischen über Aggressinimmunität gemachten Erfahrungen mehrfacher Ergänzungen.[1]) Das Studium der Aggressinimmunität gegen echte Parasiten hat nämlich das eigentümliche Resultat gehabt, dafs zwar, wie vorauszusehen war, eine rasche Abtötung der Bazillen im Tiere nicht stattfindet, dafs aber gelegentlich auch eine sehr bedeutende Vermehrung im immunen Organismus eintreten kann, ohne dafs diese von den geringsten Krankheitserscheinungen begleitet ist. Namentlich die schönen Versuche von Weil mit Hühnercholera und Schweineseuche im Peritoneum aktiv und passiv immuner Meerschweinchen haben dies deutlich gemacht.

Aber auch für Milzbrand fand Bail im immunen Tiere lange Zeit Bazillen. Sobernheim, dessen Milzbrandimmunität sicher eine antiaggressive ist, fand sogar Vermehrung im kreisenden Blute. Keine der gegenwärtig geltenden Anschauungen über

1) Ich bin Herrn Prof. Bail und Herrn Dr. Weil für die gütige Überlassung ihrer diesbezüglichen, ausführlich erst später zu veröffentlichenden Erfahrungen zu grofsem Danke verpflichtet.

Immunität vermag sich mit diesen Feststellungen abzufinden, als die Aggressintheorie. Denn sobald nur die Aggressine durch den Immnnzustand paralysiert sind, hat die Vermehrung, die ja doch nicht eine schrankenlose Durchwucherung bedeutet, keine gröfsere Wichtigkeit als das Bakterienwachstum etwa in der Mundhöhle. Schliefslich fallen die Bakterien doch den Körperschutzkräften zum Opfer. Die grofse Bedeutung der Unterscheidung von obligat invasiven Parasiten und Halbparasiten zeigt sich also gerade hier wieder sehr deutlich.

Parasiten im natürlich virulenten Zustande unterliegen der Auflösung durch die Körpersäfte, wie der Phagozytose so gut wie gar nicht und wahrscheinlich deshalb wirken sie nicht unmittelbar vergiftend. Anders bei den Halbparasiten und unter diesen ganz besonders bei Dysenteriebazillen.

Sie unterliegen der Phagozytose wie der Auflösung durch Körpersäfte sehr leicht. Erstere stellt die unschädliche Beseitigungsweise dar, denn dadurch wird das etwa freiwerdende Gift sofort unschädlich gemacht. Letztere bedeutet die plötzliche Resorption von Endotoxin. Denn es ist wohl kaum zu bezweifeln, dafs sowohl die Giftwirkung im Exsudate infizierter Tiere als die in älteren Bouillonkulturen auf gelöste Endotoxine zurückzuführen ist. Da man nun gezwungen ist, zur erfolgreichen Infektion eines Tieres mit Dysenteriebazillen grofse Mengen zu injizieren, so kann auch trotz bestehender Antiaggressivität Vergiftung eintreten, wenn nicht, wie dies Regel ist, Leukozyten das Gift paralysieren. Erfolgt aber im immunen Tiere, so wie bei der Immunität Weils gegen Hühnercholera Vermehrung so bedeutet das bei Halbparasiten eine Giftanhäufung, der gegenüber auch die Leukozyten schliefslich versagen müssen. Es ist also das, was bei einem Parasiten für den Tierkörper ganz unschädlich ist, bei einem Halbparasiten gefährlich.

Aus diesen Darlegungen geht hervor, dafs die Immunität gegen den Dysenteriebazillus eine ganze Reihe von Momenten berücksichtigen mufs, unter denen aber dem gegen die Giftwirkung gerichteten unter allen Umständen eine sehr grofse Bedeutung zukommt. Diese kann wieder in zweifacher Weise er-

folgen: durch Erzeugung einer direkten Antitoxinimmunität und durch Steigerung der normalen Giftbindung durch die Leukozyten. Dafs die Zellen dazu imstande sind, wurde bereits bewiesen[1]); wenn solche rasch und reichlich zuströmen, so können sie durch Phagozytose an der Zerstörung der Bazillen in ungefährlicher Weise arbeiten und überdies das sonst entstandene Gift beseitigen. In der Tat sind aktiv aggressinimmune Tiere, wie bereits angeführt wurde, dazu imstande. Aber solche werden auch bis zu einem gewissen Grade antitoxisch immun sein, da das zur Injektion verwendete Peritonealexsudat dysenterischer Meerschweinchen aufser Aggressin auch Gift enthält und dieses im Blute vorbehandelter Tiere Antitoxin erzeugen kann. In der Tat sind Meerschweinchen nach zweimaliger Injektion sterilen, auch von toten Bazillen so viel als möglich befreiten Aggressins völlig immun, auch gegen schwere Infektion, die für Kontrolltiere in kurzer Zeit tödlich ist. Aufser den bisher angeführten Beispielen seien noch zwei Versuche hierüber angeführt:

Tabelle I.

| Nr. | Vorbehandlung | Infektion | Tod | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| 90 | 12. XII. 1,0 ccm Aggressin subkutan 28. I. 1,5 ccm Aggressin subkutan | 12. II. 2 Agarkulturen i. perit. | lebt | Nach 1 Std. merkt man viele Haufen von Bazillen, vielfach um Leukozyten herum. Nach 2 Std. hochgradige Haufenbildung der Bazillen. Die Haufen liegen vielfach, aber nicht sämtlich, um Leukozyten herum. Nach 3 Std. sind sowohl die Haufen wie die Phagozytose verschwunden. Freie Bazillen fehlen in dem leukozytenreichen Exsudate. Leht. |
| 152 | Kontrolle | wie 90 | in der Nacht | Nach 1 Std. massenhaft Bazillen. Nach 2 Std. deutliche, starke Vermehrung; einige Leukozyten. Nach 3 Std. keine Zunahme der Leukozyten, von denen einige schwache Phagozytose zeigen. Enorme Bazillenmengen. Die Sektion ergibt das Bild schwerer Infektion. |

1) Berliner klin. Wochenschr., 1905, Nr. 15.

Tabelle II.

| Nr. | Vorbehandlung | Infektion | Tod | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| 91 | 12. XII. 1,0 ccm Aggressin subkutan 28. I. 1,5 ccm Aggressin subkutan | 13. II. 2,5 ccm Exsudat von T. 152 i. perit. | lebt | Nach 1 Std. haben sich alle Bazillen zusammengeballt. Leukozyten, davon die polynukleären mit schwacher Phagozytose, bereits zahlreich. Nach 2 Std. haben die Bazillen stark abgenommen, die Zahl der Leukozyten ist sehr gestiegen. Hochgradige Phagozytose. Nach 3 Std. nur vereinzelte Bazillen noch zu finden. Weitere Vermehrung der Leukozyten, nur noch hie und da mit Phagozytose. Nach 4 und 7 Std. reiner Eiter ohne Bazillen. Das Tier sieht krank aus, erholt sich am nächsten Tage. |
| 153 | Kontrolle | Wie 91 | nach 8 Std. | Nach 1 Std. wenig Lymphozyten, massenhaft Bazillen ohne Haufenbildung. Nach 2 Std.: In dem von Bazillen dicht erfüllten Tropfen finden sich vereinzelte polynukleäre Leukozyten mit Phagozytose. Nach 3 Std. noch weniger Leukozyten wie vorher. Ununterbrochene Vermehrung der Bazillen. Nach 4 u. 7 Std. fast nur Bazillen im Exsudate. Sektionsbefund der schwersten Infektion. |

Durch eine einmalige Injektion von sterilem Aggressin konnte bisher eine sichere und ausgiebige Immunität gegen grofse Bazillenmengen nicht erzielt werden.

Tabelle III.

| Nr. | Vorbehandlung | Infektion | Tod | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| 214 | 0,5 ccm steriles Aggressin subkutan | Nach 15 Tg. 1½ Agarkultur i. perit. | in der Nacht | Kein Unterschied gegen 216. |
| 215 | 1,5 ccm steriles Aggressin subkutan | wie 214 | nach 24 Std. | Nach ½ Std. trat undeutliche, nach 2 Std auffallend starke Haufenbildung ein. Nach 3 Std. erschienen viele polynukleäre Leukozyten mit starker Phagozytose, und die Zahl der Bazillen nahm ab. Nach 7 Std. trat wieder Vermehrung der Bazillen ein, trotz reichlichem Leukozytengehalt der Bauchhöhle. Die Sektion lieferte das Bild einer leichten Infektion mit dickem eitrigem Exsudate und reichlichen Auflagerungen. |
| 216 | Kontrolle | wie 214 | in der Nacht | Bild schwerster Infektion mit progressiver Bazillenzunahme ohne Leukozytenzutritt. |

Was die Immunisierungsmethode betrifft, so ist bisher allerdings eine einfache Injektion von 0,5 und 1,5 ccm Aggressin noch nicht hinreichend gewesen, um vollständige Immunität gegen grofse Bazillenmengen zu verleihen, was bei Typhus nach dem Versuche von Bail leicht gelingt. Immerhin ist der Infektionsverlauf bei Meerschweinchen 215 bereits ein weit leichterer als der der anderen Tiere, so dafs die Wirkung der immunisierenden Aggressininjektion bereits ganz klar hervortritt. Es ist dazu weiter zu bemerken, dafs es sehr auf die Stärke des verwendeten Aggressins ankommt, worauf in den bisherigen Versuchen noch nicht genügend geachtet worden war. Wenig wirksame Aggressine hinterlassen, ebenso wie durch Erhitzen auf 60° gröfstenteils zerstörte, nur sehr geringe Immunitätsgrade, von denen es dazu noch sehr unsicher ist, ob es nicht etwa Spuren von bakterizider Immunität sind.

In allen Versuchen mit aktiver Aggressinimmunität tritt das rasche und reichliche Erscheinen der Leukozyten deutlich hervor. Was das Verhalten der Bazillen betrifft, so wird über die merkwürdige Haufenbildung im Tierkörper noch unten einiges zu sagen sein. Wodurch die Bazillen selbst zugrundegehen, ist mit aller Sicherheit bisher noch nicht festgestellt worden. Eine typische Granulabildung wurde nur selten und stets nur in sehr geringem Grade beobachtet; von den bakteriolytischen Lösungserscheinungen, über die Kruse, Shiga und Lentz im Serum berichten, war nichts zu finden. Phagozytose, manchmal sehr hochgradig, fehlte zwar nie, aber der gröfste Teil der Bazillen war oft schon verschwunden, noch ehe die Zellen reichlich eingetreten waren. Es ist sehr wahrscheinlich, dafs die Dysenteriebazillen in kurzer Zeit förmlich ausgefällt wurden und sich an die Wand der Bauchhöhle und namentlich am Netze niederschlagen, wo Leukozyten sich ansammeln und als Phagozyten wirken. Das ist dann im aggressinimmunen Tiere der gleiche Verlauf, wie ich ihn in gemeinsamer Arbeit mit Herrn Dr. Weil[1]) bei intraperitonealer Injektion von Pseudodiphtheriebazillen, welche nicht imstande sind aggressiv zu wirken, beobachten konnte, so

1) Wiener klin. Wochenschr., 1905, Nr. 25.

dafs die Dysenteriebazillen im aggressinimmunen Tiere sich einfach wie reine Saprophyten verhalten. Ob dabei auch eine gewisse Bakteriolyse mitwirkt, ist mit Sicherheit nicht auszuschliefsen, Hauptsache ist sie jedenfalls nicht.

Eine Vermehrung der Bazillen, wie sie bei der Aggressinimmunität gegen Parasiten möglich ist, trat nicht ein, wo sie schliefslich, wie z. B. bei Meerschweinchen 215 erfolgte, war sie von Krankheit und Tod gefolgt. In der Tat bedeutet ja Vermehrung der Bazillen bei Dysenterie gleichzeitig Giftanhäufung, welcher die Immunität gewachsen sein müfste. Das rasche und reichliche Erscheinen der Leukozyten hat jedenfalls die Gift- und Aggressinbeseitigung zur Folge. In den erwähnten beiden Versuchen ist Giftmenge (zwei Agarkulturen) nnd Aggressinmenge (2,5 ccm Exsudat, vgl. den Infektionsverlauf beim Kontrolltiere) verhältnismäfsig eine ungeheuere, und dennoch hat die Immunität standgehalten. Aber dennoch ist die Giftparalysierung keine ganz vollständige gewesen. Denn abgesehen davon, dafs die Immuntiere infolge der Peritonitis am Versuchstage krank aussahen, folgte stets Abmagerung, die erst nach zwei und mehr Wochen wieder der vollständigen Wiederherstellung wich, ein Ereignis übrigens, das auch fast nach jedem Versuche mit grofsen Dosen von Typhus und Cholera mit dem entsprechenden bakteriolytischen Immunserum eintritt. Marasmus ist aber das Kennzeichen der chronisch gewordenen Vergiftung.

Wenngleich damit gezeigt ist, dafs die Giftbeseitigung nach aktiver Aggressinimmunisierung noch einiges zu wünschen übrig läfst, so kann doch das Ergebnis bei der Schwere der Infektion mit und ohne Aggressin als ein günstiges bezeichnet werden. Da die Vorbehandlung mit Aggressin mindestens für Meerschweinchen eine gänzlich ungefährliche ist, jedenfalls unschädlicher als die Injektion von Bazillen mit ihren schweren Reaktionen zur Erzeugung der bakteriziden Immnnität[1]), so dürfte ein Versuch am Menschen für die nächste Zeit gerechtfertigt sein, wobei zu bedenken ist, dafs der Eintritt der

1) Vgl. Leutz, Handbuch von Kolle-Wassermann, Bd. 4, S. 900.

Aggressinimmunität ein relativ später ist (bei Meerschweinchen wenigstens 10, besser 14 Tage bis 3 Wochen), und daſs die behandelten Individuen bis zur Erlangung derselben im hohen Grade überempfindlich sind.

Kann so durch die bisherigen Versuche wenigstens das Prinzip der aktiven Aggressinimmunisierung als anwendbar und aussichtsreich bezeichnet werden, so ist die nächste Forderung nach Herstellung eines, womöglich zur Behandlung der menschlichen Krankheit geeigneten Immunserums viel schwerer zu erfüllen. Shiga[1]) wie Kruse[2]) gelang es, sehr hochwertige Sera durch vorsichtige Vorbehandlung verschiedener Tiere mit den Bazillen selbst zu gewinnen. Im bakterisiden Reagenzglasversuche erwiesen sich dieselben als bakterizide Immunsera, während im Tierkörper selbst eine typische Auflösung nur wenig beobachtet zu sein scheint.

Agglutination bewirken aber solche Sera sicher, und die Literatur über die Dysenteriebazillenagglutination im Blute von Kranken, Genesenen und immunisierten Tieren ist bereits eine sehr ansehnliche. Da aber erfahrungsgemäſs agglutinierende Bluteigenschaften nicht notwendig mit bakteriolytischen in Beziehung stehen müssen, läſst sich über die Natur der Wirkung der von verschiedenen Autoren (Shiga, Kruse, Lentz, Rosenthal) hergestellten und angewendeten Sera nichts sicheres aussagen, obwohl sie schon nach ihrer Entstehungsweise eine bakterizide zu sein scheint. Auch die Versuche an Menschen, die von Shiga, Kruse und Rosenthal mit Serum angestellt sind, geben über die Natur der Serumwirkung keine Anhaltspunkte, wenngleich die Resultate ermutigende sind.

Im wesentlichen gelten für die Gewinnung eines Immunserums für kranke oder in kürzester Zeit passiv zu immunisierende Menschen die gleichen Gesichtspunkte, wie sie oben für die aktive Immunität besprochen wurden. Aber ob nun das eventuell gewonnene Serum nur bakterizid oder nur antiaggressiv ist, seiner

1) Shiga, Deutsche mediz. Wochenschr., 1903, Nr. 18. Zeitschrift f. Hygiene, Bd. 41.

2) Kruse, Deutsche med. Wochenschr., 1901, Nr. 23, 24, 1903, Nr. 1 ff.

giftneutralisierenden Eigenschaft wird die gröfste Bedeutung zuerkannt werden müssen. Das geht bereits aus der Beobachtung der Bazillenwirkung im Tierversuche hervor: die imponierende und relativ rasche Vergiftung von Kaninchen, die langdauernde Abmagerung von Meerschweinchen nach Einführung von Bazillenmengen, die an sich noch gar nicht imstande sind, sich zu vermehren, wirken sehr überzeugend. Giftwirkungen, die sämtlich mit Sicherheit von den Leibessubstanzen der Bazillen hergeleitet werden können, sind ohne Intervention von lebenden Kulturen mehrfach beobachtet worden. Conradi[1]), sowie Neifser und Shiga[2]) gewannen Gifte aus Agarkulturen durch Autolyse und Extraktion, in Bouillonkulturen verschiedener Zusammensetzung wurden sie von Todd[3]), Rosenthal[4]) und Kraus[5]) und Dörr aufgefunden. Rosenthal, Todd und Kraus berichten auch in gelungenen Versuchen über Herstellung und Wirkungsweise antitoxischer Sera.

Wie bereits früher nachgewiesen, enthalten Exsudate dysenterischer Meerschweinchen neben Aggressin sehr wirksames Toxin, das aber natürlich je nach der Infektion, welcher die betreffenden Tiere erlagen, nach dem Zellgehalte der Flüssigkeit u. dgl. an Intensität wechseln mufs. Es ist kaum zu bezweifeln, dafs auch dieses Toxin als Endotoxin angesehen werden mufs, da in der Meerschweinchenbauchhöhle die Bazillenauflösung schneller und wohl auch ausgiebiger stattfindet als in der Bouillonkultur der erwähnten Autoren. Bekanntlich hat A. Wolf[6]) der Frage der Endotoxine und der Immunität besondere Aufmerksamkeit gewidmet und war dabei im wesentlichen zu dem Schlusse gelangt, dafs zur Erzeugung einer Anti-Endotoxinimmunität wenig günstige Aussichten vorhanden sind. Die Versuche mit Dysenteriebazillen beweisen, dafs dies für gewisse Mikroorganismen doch gelingt,

1) Conradi, Deutsche med. Wochenschr., 1903, Nr. 2.

2) Neifser und Shiga, Deutsche med. Wochenschr., 1903, Nr. 4.

3) Todd, zit. nach Lentz, a. a. O., S. 899. Journal of Hygiene, 1904, Bd. IV.

4) Rosenthal, Deutsche med. Wochenschr., 1903 u. 1904.

5) Kraus und Dörr, Wiener klin. Wochenschr., 1905, Nr. 7.

6) Wolf, Zentralbl. f. Bakteriol., 1904, Bd. XXXVII, S. 390 ff.

und auch jede Aggressinimmunität bei Dysenterie mufs schon ihrer Herkunft nach antitoxisch sein. Das ist ein sehr grofser Vorteil der durch Aggressineinspritzung gewonnenen Sera, die sich somit gegen die eigentliche Krankheitsursache, die Aggressivität der Bazillen, wie gegen das Moment richten, welches die Krankheitserscheinungen auslöst, das Gift.

Das Studium des Dysenteriegiftes im Meerschweinchenexsudate, dessen immunisatorische Wirkung, die Beeinflussung des Giftes durch das erzeugte Antitoxin, der Zusammenhang der dabei selbstverständlich stets zu beobachtenden Präzipitation auf die Giftbeseitigung und Antitoxinstärke[1]), bilden ebensoviele Probleme von grofser Wichtigkeit, deren Studium hauptsächlich wegen des öfter eintretenden Tiermangels noch nicht bewältigt werden konnte, und die deshalb vorbehalten sein mögen. Es wird ihr Ergebnis später mitgeteilt werden.

Jedenfalls gelingt die Herstellung antitoxischer Sera bei allen Tieren vermittelst aggressinhaltiger Exsudate sicher und verhältnismäfsig leicht, wobei allerdings niemals antitoxische Serumwirkungen von der Stärke etwa der Tetanussera beobachtet werden konnten. Keines der bisher erhaltenen Kaninchen- und Meerschweinchensera schützte bisher mit Leichtigkeit in der Menge von 0,1 ccm Kaninchen. Auch das Serum eines lange behandelten Schafes (s. unten) schützte nur in mäfsigem Grade.

Tabelle IV.

Serum von Kaninchen 14, nach 7maliger Injektion von im ganzen 1,08 ccm Meerschweinchenaggressin binnen 3 Monaten. Als Toxin dient sterilisiertes Exsudat des dysenterischen Meerschweinchens 152.

| Nr. | Serum | Toxin | Tod | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| 67 | 2,0 ccm Immunserum subkutan | Nach 1 St. 0,1 ccm Toxin subkutan | | Am Abend des 3. Tages wurde schwache Parese der Extremitäten beobachtet, die ohne stärker zu werden, 2 Tage lang bestand, dann völlig zurückging. |

1) Dehne und Hamburger, Wiener klin. Wochenschr., 1904, Nr. 29, vgl. dazu die erst nach Fertigstellung dieser Versuche erschienenen Arbeiten von Sacharoff und Kraus und Prihram, beide Zentralbl. f. Bakteriol., Bd. 39, Heft 1.

| Nr. | Serum | Toxin | Tod | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| 68 | 0,5 ccm Immunserum subkutan | wie 67 | † | Wurde am Morgen des 4. Tages tot gefunden, ohne dafs Lähmung beobachtet worden wäre. |
| 69 | — | wie 67 | † | Am 3. Tage typische Lähmung, die zunahm und am 4. Tage zum Tode führte. |

Tabelle V.

Serum von Kaninchen 28 (s. Tab. VII) und Meerschweinchen 89 (s. Tab. VII). Als Toxin dient das sterile Exsudat des dysenterischen Meerschweinchens 180.

| Nr. | Serum | Toxin | Tod | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| 88 | 1,0 ccm Kaninchenimmunserum i. v. | Nach 2 St. 0,1 ccm Toxin i. v. | | Keinerlei Störnng. |
| 89 | 0,25 ccm des gleichen Serums i. v. | wie 88 | | Keinerlei Störung. |
| 87 | 1,0 ccm normales Kaninchenserum i. v. | wie 88 | † | Am nächsten Tage bereits leichte Parese der Hinterfüfse und Vorderfüfse, die langsam bis zum Tode nach 3 Tagen, zunahm. |
| 91 | 1,0 ccm Meerschw.-Immunserum i. v. | wie 88 | | Keinerlei Störung. |
| 92 | 0,25 ccm des gleichen Serums i. v. | wie 88 | † | Nach 1 Woche wurde das Tier tot gefunden, ohne dafs Lähmung beobachtet wurde. |
| 90 | 1,0 ccm Normal-Meerschw.-Serum i. v. | wie 88 | † | Die Lähmung trat erst am 6. Tage ein, führte aber bereits am Morgen des nächsten Tages zum Tode. |

Zu den Giftversuchen ist noch einiges zu bemerken. Sie werden natürlich am besten an Kaninchen angestellt, welche rasch eintretende und sehr charakteristische Erscheinungen[1]) darbieten. Meerschweinchen zeigen keine Lähmungen, wohl aber Marasmus, dessen Stärke vielleicht sehr von individuellen Verhältnissen abhängt. Es war nun sehr auffallend, dafs Meer-

1) Vgl. Archiv f. Hygiene, Bd. 52, S. 404.

schweinchen, die zur Prüfung der antiaggressiven Serumwirkung Bazillen in grofser Menge intraperitoneal erhalten hatten, auch nach vollständiger Beseitigung jeder Infektionsgefahr sehr oft abmagerten, manchmal auch nach Wochen steril an Kachexie zugrunde gingen. Überdies zeigten solche Tiere oft, trotz des nach einigen Stunden eintretenden günstigen Bazillen- und Zellbefundes in der Bauchhöhle, starke Krankheitserscheinungen, oft ausgeprägter als die Kontrolltiere, deren Bauchhöhle von Bazillen erfüllt war, und die kurze Zeit darauf starben. Gleichwohl war von Bazillenauflösung, wie etwa bei Cholera, nichts zu bemerken, und doch müssen diese Vergiftungserscheinungen auch auf die Bazillen bezogen werden. Gegen sie scheint das im Kaninchenversuche so deutlich die Lähmungen verhindernde antitoxische Serum nur sehr schlecht zu schützen. Auch bei Kaninchen wurde nach Serum-Exsudatinjektion mehrfach beobachtet, dafs die Tiere, ohne je die geringste Lähmung zu zeigen, nach Tagen oder Wochen eingingen, und zwar meist, ohne dafs Marasmus hohen Grades beobachtet worden wäre. Diese Verhältnisse, welche vielleicht auf eine Mehrheit von Giftwirkungen hindeuten, bedürfen noch sehr der Untersuchung, zu der die relativ leichte und einfache Gewinnung des Dysenterietoxins im Meerschweinchenexsudate günstige Bedingungen bieten dürfte.

In bezug auf die Wirkung von durch Aggressinimmunisierung gewonnenen Sera mögen zunächst einige Angaben folgen:

Tabelle VI.

Qualitativer Versuch mit Serum von Kaninchen 14 (s. Tab. IV).

| Nr. | Serum | Infektion | Tod | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| 156 | 2,5 ccm subkutan | Nach 6 Std. 1,5 ccm Exsudat eines dysenterischen Meerschw. i. perit. | lebt | Schon nach $^1/_2$ Std. finden sich weder Bazillen noch Granula, wohl aber bereits kleine polynukleäre Leukozyten. Nach 1 Std. starke Vermehrung von kleinen polynukleären Zellen. Nach 2 Std. treten auch grofse polynukleäre Leukozyten in dem eitrigen Exsudate auf. Nach 3 Std. reiner Eiter. Lebt. |
| 157 | — | wie 156 | ca. 16 Std. | Fortschreitende Vermehrung der Bazillen, aber doch nur Sektionsbefund einer mittelschweren Infektion. |

Tabelle VII.

**Serum von Meerschweinchen 89, das innerhalb 3 Monate 7,3 ccm Meerschweinchenaggressin erhalten hatte und von Kaninchen 28, das in der gleichen Zeit mit 0,95 ccm behandelt worden war.**

| Nr. | Serum | Infektion | Tod | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| 178 | 1,0 ccm Meerschwein.-Immunserum subkutan | Nach 15 Std. 1¼ Agarkultur i. perit. | lebt | Nach ½ Stunde sind bereits sehr viele Leukozyten, aber keine Bazillen mehr zu finden. Einige zweifelhafte Granula wurden beobachtet. Weiterhin wurde das Exsudat rasch eitrig, ohne daſs noch Bazillen zu sehen waren. |
| 179 | 1,0 ccm Kaninchen-Immunserum subkutan | wie 178 | lebt | Nach ½ Std. groſse Mengen von Bazillen, wenig Leukozyten. Nach 1 Std. noch viele Bazillen, aber weniger als im Kontrolltiere; hie und da Zusammenballung derselben, meist um Leukozyten herum. Nach 2 Std. vermehren sich die Leukozyten unter langsamer Bazillenabnahme. Nach 3 Std Leukozyten vermehren sich weiter, die Zahl der Bazillen stark in Abnahme, doch finden sich noch Haufen von Zellen herum. Starke Phagozytose. Nach 7 Std. sind in dem eitrigen Exsudate weder Bazillen, noch Granula, noch Phagozytose zu finden. |
| 180 | — | wie 178 | innerhalb 20 Std. | Progressive Bazillenvermehrung. Nach 2 Std. sind einige Leukozyten vorhanden, die auch Phagozytose zeigen, sich aber nicht vermehren. Befund der schwersten Infektion. |

Alle Autoren, die sich mit Dysenterieimmunisierung beschäftigen, betonen die Schwierigkeit der Immunisierung von Kaninchen mit Bazillen, während die Behandlung mit Aggressin bei einiger Vorsicht eine sehr leichte ist. Man muſs natürlich nur Sorge tragen, die erste Injektion wegen der groſsen Giftigkeit der Exsudate sehr klein zu machen (0,005—0,01 ccm). Üble Zufälle wurden bei vorsichtiger Steigerung nicht beobachtet, Gewichtsabnahmen gleichen sich schnell wieder aus.

Groſse Sorgfalt wurde auf die Behandlung eines Schafes mit Dysenterieaggressin verwendet, um zu sehen, ob sich in groſsen Mengen wirksames Serum gewinnen lieſse. Im ganzen ist der Erfolg der fast achtmonatlichen Bemühungen an diesem Tier ein mäſsiger, wenngleich er im Prinzip vollständig den gehegten

Erwartungen entspricht und dieselben bestätigt. Dafs nicht bessere Resultate erzielt wurden, liegt vielleicht an der unzweckmäfsigen Wahl der Tierart. Mit Pferden (Shiga, Kruse), wohl auch mit Ziegen (Lentz), dürften nach den bisherigen Erfahrungen die Versuche leichter sein.

Das Schaf war zuerst mit geringen Dosen sterilen Meerschweinchenaggressins, die gut vertragen wurden, subkutan behandelt worden. Als die Dose höher wurde, stellte sich starke lokale Reaktion in Gestalt von lange bestehenden Infiltraten ein, auch das Allgemeinbefinden war gestört. Nach jeder Injektion wurde eine grofse Pause eintreten gelassen, schon deshalb, weil die Erfahrung bei allen Aggressinimmunisierungen gelehrt hat, dafs die allzufrühe Entnahme von Blut leicht ein Serum liefert, das statt zu schützen, die Infektion begünstigt, also aggressiv ist, genau so wie bei aktiver Immunisierung eine gewisse, nicht zu kurze Zeit verstreichen mufs, damit die Infektion nicht ein überempfindliches Tier betreffe. Bei der subkutanen Injektion des Aggressins mufs darauf geachtet werden, dafs dieselbe im lokalen Zellgewebe ausgeführt wird, wonach die entstehenden Infiltrate nach kurzer Zeit zum grofsen Teil verschwinden, während sie sonst sehr langsam resorbiert werden.

Nachdem das Tier im ganzen 17,5 ccm Aggressin in sieben Injektionen erhalten hatte, wurde das Serum geprüft und zwar mit sehr schlechtem Erfolge.

Tabelle VIII.

Schafserum nach Injektion von im ganzen 17,51 ccm Meerschweinchenaggressins innerhalb ca. $2^1/_2$ Monaten. Antiaggressive Wirkung.

| Nr. | Serum | Infektion | Tod | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| 137 | 2,0 ccm Immunserum subk. | Nach 16 Std. 2 ccm Exsudat eines dysenterischen Meerschw. i. perit. | in der Nacht | Ohne Unterschied. Verlauf und Befund schwerster Infektion. |
| 138 | 2,0 ccm Normal-Schafserum subk. | wie 137 | in der Nacht | |

Tabelle IX.

Das gleiche Schafserum wie oben in Tabelle VIII. Antitoxische Wirkung an Kaninchen von ca. 1000 g.

| Nr. | Serum | Toxin | Tod | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| 54 | 2,0 ccm Normal-Schafserum subk. | Nach 1 Std. 0,1 ccm subkut. | 5 Tage | Lähmung trat erst am Morgen des 4. Tages ein und wurde rasch vollständig. |
| 55 | 2,0 ccm Immunserum subk. | wie 54 | lebt | Dauernd gesund geblieben. |
| 56 | 0,5 ccm Immunserum subk. | wie 54 | 4 Tage | Am 3. Tage bereits Lähmung, die langsam zunahm. |

Darnach erhielt das Schaf auf einmal 8,0 ccm Meerschweinchenaggressin subkutan und nach Verlauf von 3 Wochen wurde neuerlich Serum genommen.

Tabelle X.

| Nr. | Serum | Infektion | Tod | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| 163 | 1,5 ccm Immunserum subkutan | Nach 15 Std. 2 Agarkulturen i. perit. | in der Nacht | Der einzige Unterschied gegen das Kontrolltier bestand in dem reichlichen Auftreten von Leukozyten während der Infektion und dem Befunde eitriger Auflagerungen bei der Sektion. Die Bazillenvermehrung war nicht beeinflufst. |
| 164 | ohne Serum | wie 163 | in der Nacht | |

Infolge dieses ungünstigen Ergebnisses wurde die intravenöse Injektion (8,0 ccm Meerschweinchenaggressins in zwei Injektionen) versucht. Darnach war das Serum deutlich wirksam.

Tabelle XI.

| Nr. | Serum | Infektion | Tod | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| 183 | 2,0 ccm Immunserum subkutan | Nach ca. 20 Std. 1 Agarkultur i. perit. | lebt | Nach 1 Std. waren Leukozyten bereits aufgetreten, daneben Bazillen. Nach 2 Std. noch reichliche Bazillen. Schwache Phagozytose. Nach 3 Std. sind die Bazillen viel spärlicher geworden, daneben Eiter mit Makrophagen, grofsen und kleinen polynukleären Leukozyten. Nach 6 Std. Eiter fast ohne freie Bazillen mit schwacher Phagozytose. |

| Nr. | Serum | Infektion | Tod | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| 184 | 0,5 ccm Immunserum subkutan | wie 183 | lebt | Bereits nach ½ Std. ansehnliche Zahl von Leukozyten. Bazillen schon vermindert, nehmen aber dann wieder zu. Nach 3 Std. ist der Unterschied gegen das Kontrolltier gering. Nach 6 Std. sind die Bazillen stark vermindert und massenhaft Leukozyten mit mäfsiger Phagozytose sind aufgetreten. Das Tier war krank, erholte sich dann aber wieder. |
| 185 | — | wie 183 | ca. 20 Std. | Beständig fortschreitende Bazillenvermehrung und Befund der schweren Infektion. |

Nach einer weiteren intravenösen Injektion von 7,0 ccm Meerschweinchenaggressins und einmonatlicher Pause ergab die Serumprüfung bei gleichzeitiger intraperitonealer Impfung:

Tabelle XII.

| Nr. | Infektion | Tod | Bemerkungen |
|---|---|---|---|
| 201 | 1,0 ccm Exsudat eines dysenterischen Meerschweinchens + 0,75 ccm Immunserum i. perit. | lebt | Nach ¼ Std. relativ spärliche Bazillen, zum Teil in Haufen. Spärliche Leukozyten. Nach ½ Std. wenige Bazillen, keine Granula. Nach 1 Std. viele Leukozyten mit schwacher Phagozytose. Spärliche Bazillen, hie und da Granula. Nach 2 Std. im wesentlichen gleich. Nach 3 Std. massenhaft Leukozyten, von denen die grofsen polynukleären Phagozytose zeigen Weder Bazillen noch Granula. |
| 202 | 1,0 ccm Exsudat + 0,25 ccm Immunserum i. perit. | nach 24 Std. | Nach ¼ Std. sind die Bazillen zu grofsen und kleinen Haufen zusammengeballt. Nach ½ Stunde ungefähr ebenso, aber unter Bazillenverminderung Nach 1 Std. sind erst wenig Leukozyten bei gleichem Bazillenbefunde aufgetreten, ebenso nach 2 Std. Nach 3 Std. nehmen die Leukozyten unter energischer Phagozytose zu, aber auch die Bazillen. Die Sektion ergibt wenig dickes eitriges Exsudat mit grofsen und kleinen polynukleären Leukozyten und starker Phagozytose, daneben viele freie Bazillen. Viele Auflagerungen. |
| 203 | Kontrolle ohne Serum | in der Nacht | Progressive ununterbrochene Bazillenvermehrung, ohne Leukozytenzutritt; schwerste Infektion. |

Ein Vergleich der Wirkung von Kruses Serum und dem erwähnten Schafserum unter schwerster Infektion zeigt:

Tabelle XIII.

| Nr. | Serum | Infektion | Tod | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| 204 | 0,5 ccm Kruses Serum | Gleich danach 1,5 ccm Exsudat von Nr. 203 | leht | Nach 1/4 Std. sind nnr noch wenige Bazillen mit viel Granulahildung vorhanden, keine Haufenhildung, keine Zellen. Nach 1 Std. ehenso. Nach 2 Std. wenige Granula nnd Bazillen, keine Zellen. Nach 3 Std weder Bazillen noch Grannla, fast keine Zellen. Erst nach 8 Std. finden sich reichliche Leukozyten, einige zeigen Phagozytose. Bleibt am Leben. |
| 205 | 0,5 ccm Schaf-serum | wie 204 | | Nach 1/4 Std. sind sämtliche Bazillen zu Hanfen vereint. Es finden sich bereits ansehnliche Mengen von kleinen polynukleären Zellen mit intensiver Phagozytose. Nach 1/2 Std wie vorher, aber Verminderung der Bazillen. Nach 1 Std. ist die Zahl der Bazillen weiter gesnnken. Die Haufen sind klein, die Phagozytose wird schwächer. Nach 2 Std weitere Bazillenverminderung und Lenkozytenvermehrung. Nach 3 Std. sind nur noch einige kleine Haufen mit Mühe zn finden. Nach 8 Std. reiner Eiter ohne Bazillen und Granula. Bleibt am Leben. |

Beide Sera hätten also in der Menge von 0,5 ccm schützen können; die Verschiedenheit der Wirkungsweise, das Fehlen der Agglutination und das spätere Eintreten der Leukozytose in Versucheu mit Kruses Serum tritt deutlich hervor.

Trotz der auffallend gesteigerten Wirkung mufste die intravenöse Injektion des Aggressins wieder aufgegeben werden, da dieselbe nur mit sichtlicher Lebensgefahr auszuführen war. Bald uach der Injektion wurde das Schaf krank, die Atmung frequeut und daun röchelnd, kurz, das Tier bot die Symptome eines akutesten Lungenödems. Dann erfolgte die Erholung sehr rasch, das Tier war am nächsten Tage wieder gesund und zeigte auch nur kurze Zeit hindurch Gewichtsabnahme. Ob diese bedrohlichen Erscheinungen auf das Toxin des Exsudates zurückzuführen sind, oder einfach auf die artfremde Flüssigkeit[1]), ist nicht entschieden, doch ist letzteres wahrscheinlicher.

1) Vgl. »Die Serumkrankheit« von v. Pirquet und Schick.

Es wurde dann noch Aggressin in grofsen Dosen je 10 und 20 ccm auf einmal in das lockere Gewebe der Schenkelfalte injiziert, wonach die Infiltrationen rasch zurückgingen. Wesentlich stärker war aber darnach die schützende Serumwirkung nicht geworden.

Tabelle XIV.

| Nr. | Serum | Infektion | Tod | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| 218 | 0,5 ccm Serum | 1½ Agarkultur | lebt | Nach 10 Min. findet sich starke Haufenbildung der injizierten Bazillen, meist um polynukleäre Leukozyten herum. Nach ½ Std. auffallende Abnahme der Bazillen, ohne Granulabildung. Gleichzeitig sind auch die Leukozyten fast verschwunden. Nach 1 Std. nehmen die Leukozyten wieder etwas zu, die Bazillen sind weniger geworden, hie und da findet sich unsichere, vereinzelte Granulabildung. Nach 2 Std. haben sich die Bazillen gegen früher etwas, aber immer unter Haufenbildung, vermehrt. Gleichzeitig treten reichlich kleine, weniger grofse polynukleäre Leukozyten auf mit energischer Phagozytose. Nach 3 Std. Abnahme der Bazillen, sonst wie vorher. Nach 7 Std. sind noch immer Bazillen in ungefähr gleicher Zahl, vorher neben massenhaft Leukozyten zu finden; die Phagozytose hat an Intensität nachgelassen. Das Tier war noch am nächsten Morgen krank und wurde sehr marastisch. |
| 219 | 0,1 ccm Serum | 1½ Agarkultur | in der Nacht | Nach 10 Min. bilden viele Bazillen um kleine polynukleäre Leukozyten kleine Häufchen. Nach ½ Std. ist die Haufenbildung der Bazillen sehr ausgesprochen. Zellen wie vorher. Nach 1 Std. haben sich die Bazillen unter stärkster Haufenbildung etwas vermindert. Zellen nicht auffällig vermehrt. Nach 2 Std. ist die Haufenbildung gröfstenteils verschwunden, die Zahl der Bazillen hat sich vergröfsert, aber auch die der Zellen, welche stärkste Phagozytose zeigen. Nach 3 Std. sind die Bazillen vermindert, die Leukozyten aber nur wenig vermehrt. Nach 7 Std. neben vielen, meist kleinen polynukleären Leukozyten mit schwacher Phagozytose wieder sehr zahlreich freie Bazillen vorhanden. Im toten Tiere findet sich eine starke Verunreinigung durch grofse dicke Stäbchen. |

| Nr. | Serum | Infektion | Tod | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| 220 | Kontrolle | 1½ Agarkultur | in der Nacht | Die Bazillen vermehren sich ohne jede Haufenbildung ununterbrochen. Leukozyten treten während der ganzen Beobachtung nur in sehr geringer Zahl in die Bauchhöhle ein. Die Sektion ergibt den Befund schwerster Infektion. |
| 221 | 0,5 ccm Serum i. perit. | gleich darauf 0,75 ccm frisches Exsudat von 220 i. perit. | nach 5 Tag. | Nach ¼ Std. ist starke Haufenbildung bei Anwesenheit weniger Leukozyten zu beobachten. Nach ½ Std. sind die Bazillen fast verschwunden. Nach 1 Std. ebenso, es treten einige polynukleäre Zellen mit schwacher Phagozytose auf. Nach 3 Std. sind noch spärliche Bazillen, neben massenhaften Zellen mit schwacher Phagozytose zu finden. Das Tier wurde schwer krank, erholte sich dann, ging aber nach 5 Tagen marastisch ohne Bazillen zugrunde. |
| 222 | Kontrolle ohne Serum | wie 221 | in der Nacht | Fortschreitende Vermehrung der Bazillen, ohne Leukozytenübertritt, schwerste Infektion. |
| 223 | 0,4 ccm Serum | gleich darauf 0,5 ccm frisches Exsudat von 222 | nach 32 Std. | Nach ½ Stunde schöne Haufenbildung der Bazillen, wenig Leukozyten. Nach 1 Std. vermindern sich die Bazillen sehr stark. Nach 2 Std. treten massenhaft Leukozyten mit Phagozytose in die Bauchhöhle über ohne sichtliche Veränderung der Zahl der freien Bazillen. Die Bazillenzahl bleibt im wesentlichen trotz Eiters in der Bauchhöhle gleich bis nach 8 Std., wo wieder Vermehrung eintritt. Die Sektion ergab ein dick eitriges Exsudat mit vielen Anflagerungen auf Leber, Milz und Netz. Leukozyten mit starker Phagozytose, daneben reichliche freie Bazillen. |
| 224 | 0,1 ccm Serum | wie 223 | nach 24 Std. | Nach ½ Std. finden sich nur wenig Andeutungen von Haufenbildung in der ungeheuren Menge der Bazillen. Keine Leukozyten. Nach 1 Std. wie vorher. Nach 2 Std. treten Leukozyten auf, aber viel weniger zahlreich als bei 223. Das Bild bleibt unter beständiger Zunahme der Bazillen und langsamer Abnahme der Leukozyten so bis zum nächsten Morgen. Die Sektion ergibt ein dickes eitriges Exsudat mit massenhaft Bazillen und sehr vielen polynukleären Zellen mit intensiver Phagozytose. Reichliche eitrige Auflagerungen. |
| 225 | Kontrolle ohne Serum | wie 223 | nach 8½ St. | Fortschreitende Bazillenvermehrung ohne Leukozytenzutritt. Befund der schwersten Infektion. |

Die Schutzkraft des Schafserums kann also bei der gewählten Infektionsart gegenwärtig mit 0,5 ccm für ein Meerschweinchen von 200—300 g angenommen werden. Das scheint auf den ersten Blick sehr wenig im Vergleiche z. B. mit den Kruseschen Seris, die in kleinen Bruchteilen eines Milligramms noch schützten. Das Ergebnis wird aber ein anderes, wenn man die Infektionsart berücksichtigt, die gewählt wurde und gewählt werden mufste, um Infektion und Gift, oder auch Infektion, Aggressin und Gift gleichzeitig zur Wirkung zu bringen. Leider war es wegen empfindlichen Tiermangels nicht möglich, das Serum, welches Herr Prof. Kruse in liebenswürdigster und dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt hatte, im Meerschweinchenversuch ausführlich vergleichend zu prüfen, wie es für Agglutination und Bakteriolyse in vitro geschehen konnte.

Was den Schützwert des Schafserums gegen Toxinwirkung beim Kaninchen betrifft, so wurde derselbe nur qualitativ geprüft; 0,5 ccm Schafserum schützte vollständig gegen 0,25 ccm Toxin (mindestens fünffach tödliche Dosis), beides subkutan und örtlich und zeitlich getrennt (das Antitoxin 8 Stunden vorher) angewendet.

Bei der Durchsicht der bei Zuführung der Wirkung des Schafserums ausführlich wiedergegebenen Versuche fällt sofort in Übereinstimmung mit den Ergebnissen bei der aktiven Aggressiuimmunisierung das rasche und reichliche Zuströmen der Leukozyten auf, dem wohl hier dieselbe Bedeutuug wie dort beigelegt werden mufs. Es findet auch dann noch statt, weun, wie bei Nr. 224, beständig grofse Mengen von sich vermehrenden Bazillen in der Bauchhöhle sind, und liefert das Sektionsbild der relativ leichten Infektion, wo die Bauchhöhle des Kontrolltieres fast leukozytenfrei bleibt.

In den Fällen, wo der Schutz deutlich ausgesprochen ist, erfolgt aber auch mehr oder minder rasche Abnahme der in grofser Menge eingespritzten Bakterien. Von einer sicheren Auflösung, Quellung und Körnchenbildung war nur selten eine Spur zu bemerken, obwohl sie nach den Versuchen von Lentz[1]) in der Meerschweinchenbauchhöhle gut beobachtet werden kann.

1) Lentz, Handbuch von Kolle und Wassermann, Bd. 4, S. 898.

Im Reagenzglasversuche fehlte jede Bedeutung von Immunkörperwirkung so vollständig, dafs Zusatz des inaktivierten Serums sogar eine Verschlechterung der als Komplement benutzten Kaninchenseris herbeiführte.

Tabelle XV.

Schafserum, wie das in Tabelle XII mit Meerschweinchen 201, 202 benutzte.

| | | | | | | | | Sofort | Nach 4 St. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. | 0,1 | inakt. | Schafserum | + 0,3 | akt. | Kanin.-Serum | + 0,6 Na Cl | | |
| 2. | 0,05 | » | » | + 0,3 | » | » | + 0,65 » | | einige |
| 3. | 0,01 | » | » | + 0,3 | » | » | + 0,69 » | 88 | Tausend |
| 4. | 0,001 | » | » | + 0,3 | » | » | + 0,69 » | | |
| 5. | | | | 0,3 | » | » | + 0,7 » | | 0 |
| 6. | | | | | | | 1 » | | 104 |

Tabelle XVI.

Schafserum, wie das in Tabelle XII mit Meerschweinchen 201, 202 benutzte.

| | | | | | | | | Sofort | Nach 4 St. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. | 0,1 | inakt. | Schafserum | + 0,3 | akt. | Kanin.-Serum | + 0,6 Na Cl | | |
| 2. | 0,05 | » | » | + 0,3 | » | » | + 0,65 » | | ∞ |
| 3. | 0,01 | » | » | + 0,3 | » | » | + 0,69 » | ca. | |
| 4. | 0,1 | | Kruse-Serum | + 0,3 | » | » | + 0,6 » | 30 000 | |
| 5. | 0,05 | | » | + 0,3 | » | » | + 0,65 » | | ca. |
| 6. | 0,01 | | » | + 0,3 | » | » | + 0,69 » | | 10 000 |
| 7. | | | | 0,3 | » | » | + 0,7 » | | |

Sehr auffällig trat auch die Wirkung des Kruseschen Serums (dasselbe war ungefähr zwei Jahre alt) nicht hervor, doch bestand immerhin ein sehr deutlicher Unterschied gegen das Schafserum. Die benutzte Kultur war die wenig virulente Kruse sche Stammkultur.

Während der Mangel von sichtbar zu machenden, bakteriziden Eigenschaften nicht auffallend war, kam die Ausbildung hoher agglutinierender Fähigkeiten im Tierkörper selbst überraschend, um so mehr als das Serum im Glase nur wenig agglutinierte. Schon bei aktiv immunisierten, weit schöner aber bei Serumtieren trat diese Eigentümlichkeit schon ganz kurze Zeit nach der Bazilleneinführung auf. Die Haufen, die sich bildeten, waren oft sehr grofs und unterschieden sich einigermafsen von denen, wie sie aufserhalb des Tierkörpers durch z. B. das

Krusesche Serum erzeugt wurden. Sie waren nämlich aufserordentlich dicht und machten einen sehr kompakten Eindruck. In sehr vielen Fällen gaben Leukozyten, die meist mit Bazillen erfüllt waren, den Kern der Haufen ab, in anderen waren die Leukozyten nur noch undeutlich zu sehen, öfters fehlten sie ganz. Wie die oben mitgeteilten Versuchsauszüge erkennen lassen, konnte auf die Haufenbildung vollständiges Verschwinden, aber auch wieder Auseinandergehen der Bazillen und Vermehrung erfolgen. Auch Bail[1]) hatte bei Typhusaggressinimmunität Bazillenagglutination in der Bauchhöhle von Meerschweinchen beobachtet, während aber seine Sera dabei auch aufserhalb der Tierkörper agglutinierten, erwies sich das in dieser Richtung wiederholt und sehr genau untersuchte Schafserum als dauernd sehr wenig wirksam.

Tabelle XVII.

Schafserum wie in den Versuchen mit Meerschweinchen 201, 202, 203 in Tabelle XII. Agglutination 2 Stunden bei 37° C.

| Verdünnung | Kruses Serum | Schafserum |
|---|---|---|
| 1 : 50 | Komplett, klar geworden, mit Satz | Keine Agglutination. |
| 1 : 100 | | |
| 1 : 500 | | |
| 1 : 1000 | | |
| 1 : 2000 | | |
| 1 : 5000 | Deutlich, aber unvollständig | |

Tabelle XVIII.

Die gleiche Sera wie in Tabelle XVII, 3 Tage später untersucht. Agglutinationsprüfung nach Weil bei 55° C. Das Ergebnis ist nach halbstündiger Beobachtung bei dieser Temperatur notiert. Auch später trat keine Veränderung ein.

| Verdünnung | Kruses Serum | Schafserum |
|---|---|---|
| 1 : 50 | Komplett | Schwache Haufenbildung. |
| 1 : 100 | | Undeutl. Beginn ohne Fortschreiten |
| 1 : 500 | | |
| 1 : 1000 | | Keine Agglutination. |
| 1 : 5000 | Deutlich | |

Tierische Bazillen aus dem Exsudate infizierter Tiere unterliegen der Agglutination durch das Krusesche Serum etwas

1) Wiener klin. Wochenschr., 1905, Nr. 17.

schwächer als Kulturbazillen, ein Ergebnis, das mit Rücksicht auf die Verhältnisse bei Typhus nicht ohne Bedeutung ist, das Schafserum agglutinierte dieselbe überhaupt nicht.

Tabelle XIX.

Gewaschene Bazillen aus dem Exsudate eines der intraperitonealen Infektion erlegenen Meerschweinchens. Anordnung wie in der vorigen Tabelle; 4 Tage später angestellter Versuch.

| Verdünnung | Kruses Serum | Schafserum |
|---|---|---|
| 1 : 50 | Komplett | Keine Agglutination. |
| 1 : 100 | Komplett | Keine Agglutination. |
| 1 : 500 | Komplett | Keine Agglutination. |
| 1 : 1000 | Schwache Agglutination | Keine Agglutination. |
| 1 . 5000 | Keine Agglutination | Keine Agglutination. |

Erst die letzte der bisher untersuchten Serumproben des Schafes liefs eine deutliche Agglutination bei 55° bis zur Verdünnung 1 : 100 erkennen.

Tabelle XX.

Schafsernm wie das in Tabelle XIV, für die Meerschweinchen von 218 ff. benutzt. Agglutination bei 55°.

| Verdünnung | Kruses Serum | Schafserum |
|---|---|---|
| 1 : 50 | Nach 10 Min. komplette Agglutination | Nach 10 Min. beginnende, nach ½ Std. komplette |
| 1 : 100 | Nach 10 Min. komplette Agglutination | Nach 10 Min. keine, nach ½ St. komplette |
| 1 : 500 | Nach ½ Std noch nicht deutlich, erst nach 4 Std. komplett | Auch nach 4 Std. keine Agglutination |
| 1 : 1000 | Nach ½ Std noch nicht deutlich, erst nach 4 Std. komplett | Auch nach 4 Std. keine Agglutination |
| 1 : 5000 | Nach ½ Std noch nicht deutlich, erst nach 4 Std. komplett | Auch nach 4 Std. keine Agglutination |

Bessere Resultate in bezug auf Agglutination aufserhalb des Tierkörpers lieferten Aggressinimmunisierungen an Kaninchen und Meerschweinchen, doch waren auch hier die erzielten Werte nicht bedeutend.

Tabelle XXI.

Serum von Kaninchen 28 und Meerschweinchen 89 (s. Tab. VII). Agglutinationsversnch bei 55°.

| Verdünnung | Kaninchenserum | Meerschweinchenserum |
|---|---|---|
| 1 : 50 | Nach ½ Std. keine, nach 1 Std. unvollständig | Nach ½ Std. keine |
| 1 : 100 | Keine Agglutination | Nach 1 Std. ziemlich komplette |
| 1 : 500 | Keine Agglutination | Keine Agglutination |

Bauchhöhle auftrat, aufserhalb des Tieres aber bereits in relativ starker Konzentration fehlte, aufzuklären, gelang nicht. Es erinnert sofort an Versuche von Bail[1]) bei Typhus in der Meerschweinchenbauchhöhle, wo eine getrennte Entstehung der haptophoren Agglutiningruppe (des Agglutinophors) und der toxophoren (des Hemiagglutinins) wahrscheinlich gemacht werden konnte.

Es sieht so aus, als ob dem Aggressinserum einer dieser beiden Bestandteile fehlte und erst im Tiere selbst dazutreten würde. Versuche aufserhalb des Tierkörpers, die »Ergänzung« der fehlenden Bestandteile vorzunehmen, hatten bisher keinen sicheren Erfolg. Da es aber in neuerer Zeit immer wahrscheinlicher wird, dafs die Agglutination im wesentlichen auf physikalische Zustandsänderungen in den Suspensierungsflüssigkeiten beruht, wird wohl auch eine andere Erklärung gesucht werden müssen.

Der unmittelbare Eindruck aber, den man bei Verfolgung dieser merkwürdigen Haufenbildung über ihren Zweck erhält, geht dahin, dafs es darauf ankommt, die Bazillen aus der freien Bauchhöhle zu entfernen und sie am Netze u. dgl. niederzuschlagen, also in den unmittelbaren Wirkungsbereich der hier besonders reichlich auftretenden grofsen polynukleären Leukozyten und den Makrophagen zu bringen. Das müfste natürlich durch die Haufenbildung sehr erleichtert werden.

Bei der in kurzer Zeit stattfindenden Bakteriolyse z. B. von Choleravibrionen unter dem Einflusse hochwertiger Sera, kann das gar nicht erfolgen, der Mechanismus ist ein ganz anderer. Sowie das Stadium der Aggressinimmunität bei Typhus und hier bei Dysenterie zum ersten Male eine Haufenbildung in grofsem Mafsstabe im Tierkörper hat auffinden lassen, würde sie jetzt auch, teleologisch gesprochen, einen Zweck der sonst ganz unverständlichen Agglutination zu erkennen geben.

In kurzer Zusammenfassung lieferte die Untersuchung über Aggressinimmunität bei Dysenterie bisher folgende Ergebnisse:

1. Es gelingt Meerschweinchen gegen schwere und schwerste intraperitoneale Infektion mit Dysenteriebazillen durch

1) Archiv f. Hygiene, Bd. 42, S. 307.

zweimalige Infektion sterilen aggressiven Meerschweinchenexsudats aktiv zu immunisieren.

2. Kaninchen können durch ähnliche, entsprechend kleinere Injektionen gegen das Dysenterietoxin immunisiert werden.
3. Nach langer Vorbehandlung mit solchen Exsudaten liefern Meerschweinchen, Kaninchen und Schafe ein Serum, welches in Mengen von etwa 0,5 ccm Meerschweinchen von intraperitonealer Infektion, Kaninchen vor Vergiftung zu schützen vermag.
4. In der Bauchhöhle aktiv und passiv immunisierter Meerschweinchen findet eine eigentümliche und starke Haufenbildung der injizierten Dysenteriebazillen statt, obwohl die agglutinierenden Eigenschaften des Serums in vitro nur sehr wenig ausgeprägte sind.
5. Das durch Aggressinbehandlung gewonnene Immunserum zeigt in vitro nicht die bekannten Eigenschaften eines bakteriolytischen Serums, im aktiv und passiv immunisierten Meerschweinchen lassen sich, wenn überhaupt, nur Spuren einer Bakteriolyse auffinden.
6. Die hier studierte Immunitätsform mufs daher, abgesehen von ihrer antitoxischen Komponente, als eine neuartige, antiaggressive bezeichnet werden.

Zum Schlusse meines Aufenthaltes in Europa ist es mir Bedürfnis, Herrn Prof. Hueppe für die gewährte Arbeitsmöglichkeit und das beständige Interesse an meiner Arbeit und Herrn Prof. Bail für die tatkräftige Unterstützung bei der Ausführung derselben meinen ergebensten Dank auszusprechen.

# Über Bleivergiftungen durch eine Wasserleitung.

Von

Inspektor Dr. **Paul Fortner.**

(Aus der k. k. allg. Untersuchungsanstalt für Lebensmittel der deutschen Universität in Prag. Vorstand: Prof. Hueppe.)

In den folgenden Zeilen soll über eine Bleivergiftung berichtet werden, für deren Entstehung anfänglich unter Berücksichtigung der in der diesbezüglicheu Literatur niedergelegten Erfahrungen unter Vorbehalt eine Erklärung gegeben wurde, welche namentlich auch im Hinblicke auf das vorliegende Protokoll nahe lag, sich aber, wie spätere Versuche zeigten, nicht aufrecht erhalten liefs. Es scheint vielmehr im vorliegenden Falle ein einziger Faktor mafsgebend gewesen zu sein, die Bleilösung zu bewirken bzw. zu fördern. Allerdings wirkte entschieden begünstigend die Länge der Bleiröhrenleitung.

Der Sachverhalt war folgender:

In einem isoliert stehenden, einer Betriebsunternehmung gehörigen Gebäude, in welchem nur Arbeiterwohnungen untergebracht waren, erkrankten im Dezember 1903 neun Inwohner unter Symptomen von Bleivergiftung. Stuhlverstopfung, krampfartiges Zusammenziehen im Leibe, namentlich um die Nabelgegend, schiefergrauer oder blauschwarzer Saum am Zahnfleische,

allgemeine Blässe, Appetitlosigkeit, übler Geschmack im Munde und Erbrechen deuteten mit gröfster Wahrscheinlichkeit auf schwere Bleivergiftungen. Die ganze Sachlage liefs gleichzeitig einen gemeinsamen Herd vermuten, als welcher das von allen Bewohnern in gleicher Weise genossene Trinkwasser angesehen wurde. Eine an Ort und Stelle von den hierzu berufenen Sanitätsorganen vorgenommene vorläufige Prüfung ergab die Anwesenheit von Blei, Salpetersäure uud salpetriger Säure in dem Wasser. Es wurden nun der Leitung zwei Liter Wasser entnommen und dieselbe sodann gesperrt. Aufser diesen zwei Litern Wasser wurden noch weitere zwei Liter Wasser aus jenem Teil der Leitung entnommen, welcher sich vor dem Anschlufs des Bleirohres befand.

Die Leitung ist, wie das Protokoll anführt, eine seit 1896 bestehende Hochquellenleitung, von welcher ein Strang bis zu einem der obenerwähnteu Betriebsunternehmung gehörigen Kohlenschachte führt. Von diesem Schachte aus liefs die Betriebsunternehmung einen Bleirohrstrang bis zu dem Gebäude legen, in welchem die Erkrankungen beobachtet worden waren. Diese Bleirohrleitung lag etwa 1,3—1,5 m tief knapp unter dem Kanalgraben, welcher die heifsen Kondenswässer des Schachtes führt und stark durchlässig sein soll, und passierte endlich im Hofe des Gebäudes die Nähe einer vollständig undichten Senkgrube, deren umgebendes Terrain mit Senkgrubeninhalt durchsetzt sein soll. Die ganze Bleirohrleitung ist 680 m lang und war seit August 1903 in Betrieb. Die ersten Erkrankungen waren im Oktober beobachtet worden und zur Zeit der Untersuchung waren von den 27 in dem Hause wohnenden Leuten 17, d. i. 63%, teils leichter, teils schwerer erkrankt und 2, d. i. 7,4%, gestorben. Die der Bleiintoxikation Erlegenen waren zwei Kinder im Alter von 2 Jahren, bzw. 9 Monaten. Bemerkt sei noch, dafs die Zweigleitung am tiefsten Punkte der Hauptleitung angeschlossen war, und dafs sich häufig Druckunregelmäfsigkeiten einstellten.

Die chemische Analyse der beiden eingesendeten Wasserproben ergab folgendes Resultat (mit I ist das vor Anschlufs des

Bleirohres entnommene Wasser, mit II jenes aus der Bleirohrleitung bezeichnet):

| | Milligramm im Liter I. | Milligramm im Liter II. |
|---|---|---|
| Gesamtrückstand bei 100° C . . . | 105,0 | 120,8 |
| Kalk . . . . . | 14,4 | 14,8 |
| Magnesia . . . . . | 7,7 | 7,3 |
| Eisenoxyd + Tonerde . . . . . | 0,4 | 0,8 |
| Ammoniak . . . . . | 0 | 0 |
| Chlor . . . . . | 8,4 | 8,0 |
| Salpetrige Säure . . . . . | 0 | starke Reakt. |
| Salpetersäure . . . . . | Spur | Spur |
| Schwefelsäure . . . . . | 24,4 | 21,3 |
| Schwefelwasserstoff . . . . . | 0 | 0 |
| Kaliumpermanganat-Verbrauch . . | 7,8 | 10,3 |
| Gesamthärte (in deutschen Graden) | 2,5 | 2,5 |
| Bleioxyd . . . . . | 0 | 17,5 |

Die chemische Analyse läfst also erkennen, dafs das Wasser (II) der Zweigleitung stark bleihaltig ist und bestätigt so die ausgesprochene Vermutung der gemeinsamen Ursache der Vergiftungen.

Da leider nur zwei Liter des bleihaltigen Wassers zur Untersuchung eingesendet worden waren, konnte eine quantitative Bestimmung des Gehaltes an salpetriger Säure nicht mehr vorgenommen werden. Eine nach drei Wochen nachgesendete Probe aus der Bleirohrleitung, welche während dieser Zeit gesperrt war, ergab eine anscheinend gleich starke, qualitative Reaktion auf salpetrige Säure; die quantitative Bestimmung ergab einen Gehalt von nur 2,0 mg salpetriger Säure im Liter. Dagegen war der Bleigehalt von 17,5 mg auf 3,2 mg im Liter gesunken.

Dieses Sinken des Bleigehaltes legte die Vermutung nahe, dafs der Gehalt an salpetriger Säure, welchen man in Zusammenhang mit dem gelösten Blei brachte, äufseren Ursachen zuzuschreiben sein dürfte, wenngleich logischerweise in diesem Falle auch ein Ansteigen des Chlorgehaltes hätte erwartet werden sollen.

Auch der Gehalt an organischer Substanz bzw. der Verbrauch an Kaliumpermanganat in dem Wasser der Zweigleitung (II) zeigte eine kleine Erhöhung gegenüber jenem der Hauptleitung (I). In Berücksichtigung aller dieser Umstände und des vorliegenden Aktenmaterials wurde das Gutachten dahin abgegeben, dafs die bleilösende Wirkung des vorliegenden ziemlich weichen Wassers unterstützt worden sein dürfte 1. durch die ziemlich lange (680 m) Bleirohrleitung, 2. durch die Beschaffenheit des Wassers an sich, namentlich seine geringe Härte und 3. durch geringe Mengen von eindringenden, nitrithaltigen Fäkalwässern; die Möglichkeit des Eindringens der letzteren war an jener Stelle der Bleirohrleituug gegeben, wo dieselbe laut Protokoll in dem durch Fäkalwässer verseuchten Boden in der Nähe des die warmen Kondenswässer des Schachtes führenden Grabens gelegen war. Dort war jedenfalls leicht eine Verletzung bzw. Korrosion der Verbindungsstellen denkbar und infolgedessen ein Eindringen von Aufsenwasser. Bestärkt wurde man in dieser Ansicht durch den auffallend niederen Bleigehalt der der drei Wochen gesperrt gewesenen Leitung entnommenen Wasserprobe. Es ist leicht einzusehen, dafs ein beständiges Fliefsen des Wassers in den Röhren an undichten Stellen eine Saugwirkung äufsern und durch das Eindringen von Luft und Feuchtigkeit von aufsen die bleilösenden Eigenschaften des Wassers wesentlich erhöht werden konnten.

Stand dagegeu das Wasser in der Leitung, so war ein Diffundieren von umgebender Feuchtigkeit durch den im Innern der Leitung herrschenden Druck erschwert bzw. uumöglich gemacht, daher der geringere Bleigehalt der Wasserprobe aus der 3 Wochen gesperrt gewesenen Leitung. Die im Protokoll erwähnten Druckschwankungen in der Leitung liefsen sich auch ziemlich ungezwungen mit Undichtigkeiten bzw. einer äufseren Verletzung oder Korrosion des Bleirohres in Einklang bringen, wiewohl sie ja auch andereu Ursachen hätten zugeschrieben werden können, und, nebenbei bemerkt, nach Wolffhügel[1]) bei dem Vorgange der Bleiaufnahme eine mehr untergeordnete Rolle spielen.

1) Arbeiten a d. Kais. Ges.-Amte, II (1887), S. 509.

Auf jeden Fall wurde auf Entfernung der 680 m langen Bleirohrleitung gedrungen und dieselbe bei der Beschaffenheit des Wassers höchstens unter den üblichen Vorsichtsmafsregeln für die Hauseinleitung als zulässig erklärt.

Da den ausgesprochenen Vermutungen, namentlich was die Undichtigkeit der Leitung anbelangte, von der die Untersuchung leitenden Behörde nicht widersprochen wurde, mufste schliefslich angenommen werden, dafs dieselben den Tatsachen entsprechen, wiewohl alledem der sich in beiden Wasserproben gleichbleibende Chlorgehalt zu widersprechen schien.

Durch $1^1/_2$ Jahre später ausgeführte Versuche wurde unzweideutig festgestellt, dafs die Annahme der Undichtigkeit der Röhren, um die Anwesenheit der salpetrigen Säure zu erklären, gar nicht nötig war und sich die beobachteten Erscheinungen auch sonst ebensogut, wenn nicht besser anders erklären lassen. In einer von der grofsen Literatur, betreffend die Einwirkung von Wasser auf Bleiröhren, bisher völlig unberücksichtigt gebliebenen Abhandlung »Über Nitrifikation, III. Über die Umwandlung der alkalischen Nitrate in Nitrite« hat Schönbein[1]) schon im Jahre 1861 darauf hingewiesen, dafs Blei wässerige Lösungen von Alkalinitraten reduziert, indem Alkalinitrit gebildet wird und Blei in Lösung geht. Er hat diese Einwirkung auch bei anderen Metallen studiert und gefunden, dafs Cd, Zn, K und Na ebenso reduzierend wirken, Fe, Sn und Al dagegen nicht.

Ich habe zunächst diese Angaben hinsichtlich des Bleies nachgeprüft und kann sie bestätigen. Sodann erweiterte ich diese Nachprüfung hinsichtlich der für den Wasserleitungsbetrieb hauptsächlich in Betracht kommenden Metalle: Zink, Eisen, Kupfer, Zinn und der Legierung Messing, und kann für das Zink Schönbeins Beobachtung bestätigen, für Eisen dagegen nicht insoferne Eisen die anwesenden Nitrate auch, wenn auch in geringerem Grade reduziert als Zink. Kupfer, Zinn und Messing verhalten sich ganz indifferent. Die Versuchsanordnung war folgende: Zirka 20 cm lange, 0,8 cm dicke zylindrische Stäbe mit

1) Journ. f. prakt. Chemie, 84, 204.

blanker Oberfläche aus Zink, Eisen, Zinn, Kupfer und Messing wurden in 22 cm hohe mit eingeriebenen Glasstopfen verschliefsbare Glaszylinder gestellt, in welchen sich nitrathaltiges Quellwasser (ungefähr 20 mg Salpetersäure im Liter entsprechend) befand. Die Zylinder wurden unter Vermeidung von Luftblasen verschlossen und zwölf Stunden im Dunkeln stehen gelassen. Die Probe mit dem Zinkstabe war ganz milchig trübe, mit weifsem Bodensatz; das Filtrat liefs nach dem Ansäuern mit verdünnter Schwefelsäure und Zufügen von Jodzinkstärkekleister sofort durch Blaufärbung salpetrige Säure erkennen. Die Probe mit dem Eisenstab hatte reichlich Flocken von Eisenoxydhydrat abgeschieden; auch dieses Filtrat gab deutlich, wenngleich schwächer, die Reaktion auf salpetrige Säure. Die Zylinder mit den Kupfer-, Zinn- und Messingstäben enthielten ganz klare, farblose Lösungen, welche frei von salpetriger Säure waren.

Die von Schönbein zuerst ausgesprochene Einwirkung von Blei auf im Wasser gelöste Nitrate hat im vorliegenden Falle entschieden die gröfste Bedeutung und ein direkter Versuch gab nun Aufklärung über die Entstehung der salpetrigen Säure in dem Wasser der Bleirohrleitung.

Von dem Wasser der Hauptleitung war noch eine zwei Liter enthaltende, mit Pergament verbundene Flasche vorhanden. Es wurde zunächst die Bleifreiheit des Wassers konstatiert, sodann auf Salpetersäure und salpetrige Säure geprüft. Die Reaktion mit Diphenylamin-Schwefelsäure fiel auch diesmal, wie vor $1^1/_2$ Jahren schwach positiv aus; es konnte nur auf Spuren geschlossen werden, da die Reaktion äufserst langsam und nur ganz schwach eintrat. Salpetrige Säure war keine vorhanden, wie die Reaktion mit Jodzinkstärkekleister und verdünnter Schwefelsäure zeigte; selbst nach $1^1/_2$ stündigem Stehen trat keine Blaufärbung auf. Nun wurde in einen der oben erwähnten Glaszylinder ein ca. 10 cm langes, innen geschwefeltes Bleirohr[1]) von 0,5 cm Dicke und 1,3 cm lichter Weite gebracht, mit dem von salpetriger

1) Herrührend von der inkriminierten Leitung mit einem Gehalte von 99,92 % Blei.

Säure freien Wasser der Hauptleitung vollgefüllt und unter Vermeidung von Luftblasen verschlossen 24 Stunden an einen dunkeln Ort gestellt. Nach dieser Zeit war das Wasser im Zylinder von weifsen Flocken erfüllt, am Boden selbst befand sich ein weifser Niederschlag und im Wasser war Blei aufgelöst. Das durch Filtrieren von der Suspension getrennte, mit verdünnter Schwefelsäure angesäuerte Wasser gab mit Jodzinkstärkekleister sofort deutlich und bald stärker werdend die für salpetrige Säure charakteristische Blaufärbung, so dafs durch diesen Versuch unzweideutig die Herkunft der salpetrigen Säure im Wasser der Zweigleitung erwiesen erscheint.

Natürlich interessierte unter diesen Umständen auch der Gehalt des Wassers der Hauptleitung an Salpetersäure, von welcher die Diphenylamin-Schwefelsäure-Reaktion nur Spuren angezeigt hatte. Die durchgeführte quantitative volumetrische Bestimmung ergab einen Gehalt von 9,1 mg im Liter. Wiewohl eine solche Menge nie einen Grund zur Beanstandung geboten hätte, läfst der Versuch doch erkennen, dafs die qualitative Salpetersäurreaktion mit Diphenylamin und konzentrierter Schwefelsäure unter Umständen zu Täuschungen über die Menge der wirklich vorhandenen Salpetersäure Anlafs geben kann; denn die Reaktion trat erst nach mehreren Minuten und dann nur kaum erkennbar ein, und als »Spur« ist eine scheinbar so geringe Menge wohl kaum zu bezeichnen. Die Reaktion auf salpetrige Säure hingegen war sehr intensiv, so dafs man anfänglich ihr Vorhandensein mit dem der Salpetersäure nicht in Zusammenhang brachte. Erst die quantitativen Bestimmungen führten auf diesen Gedanken. Der Versuch lehrt aber auch, wie geringe Mengen von Nitraten genügen, eine Bleilösung herbeizuführen, wobei im vorliegenden Falle die Länge der Bleirohrleitung allerdings als wesentlich unterstützendes Moment in Betracht zu ziehen ist. Ein wenn auch noch so geringer Nitratgehalt des Wassers dürfte daher jedenfalls bei Bleirohrleitungen als ganz besonders gefährlich anzusehen sein, ja sogar den Anlafs dazu bieten, bei einem solchen von Bleirohrleitungen überhaupt abzusehen. Auf die den Bleiangriff befördernde Fähigkeit der Nitrate hat auch neuer-

dings Ružička[1]) in seinen »Systematischen Untersuchungen über die Angreifbarkeit des Bleies durch das Wasser« mit Recht hingewiesen. Der vorliegende Fall bestätigt diese Tatsache ganz eklatant.[2])

Die im ersten Gutachten auffallenden Umstände fallen nunmehr ohne weiteres fort, weil sie sich mit den später festgestellten Tatsachen ganz gut in Einklang bringen lassen.

Es könnte aber jetzt, wo die Annahme einer Undichtigkeit in den Röhren überflüssig ist, auf den ersten Blick befremdend erscheinen, dafs, wie früher erwähnt, das Wasser, während es gesperrt in der Leitung gestanden, also seine Einwirkungsdauer auf die Bleiröhren eine gröfsere war, weniger Blei aufgelöst hatte als bei beständigem oder doch normalem Gebrauch. Eine Erklärung, welche die gröfste Wahrscheinlichkeit für sich hat, dürfte in der Überlegung gefunden werden, dafs die Einwirkungsdauer des Wassers nur scheinbar einen die Bleilösung begünstigenden Einflufs hat, der ja schon durch die vorhandene Nitratmenge begrenzt erscheint, in der Tat aber eigentlich einen hemmenden Einflufs zeigen mufs. Ružička[3]) stellt folgende Reihe von Salzen in bezug auf ihre Fähigkeit, den Bleiangriff zu beschränken, auf: Nitrat, Chlorid, Sulfat, Karbonat. Nitrate greifen am stärksten an, werden also zunächst mit dem Blei in Wechselwirkung treten, und es ist leicht denkbar, dafs bei geringen Mengen, wie sie z. B. hier vorliegen, die ganze verfügbare Menge in Reaktion tritt. Es wird dann bei beständig fliefsendem Wasser der hemmende Einflufs der Chloride, Sulfate und Karbonate gar nicht zur Geltung kommen, weil die Bildung der betreffenden Bleisalze, ihrer geringeren Löslichkeit entsprechend, in der kurzen Zeit nicht statthaben kann. Steht dagegen das Wasser in der Leitung, so kommt dieser hemmende

1) Archiv f. Hygiene, 41 (1902), S. 23.

2) Mit Ausnahme Kerstings (s. Wolffhügel, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amte, II (1887), S. 507), der diese Tatsache in Abrede stellt, weisen alle Forscher, welche sich mit dem Studium der Einwirkung der im Wasser gelösten Nitrate auf Bleiröhren beschäftigt haben, auf die Fähigkeit derselben hin, die lösende Wirkung des Wassers zu erhöhen.

3) Archiv f. Hygiene, 41, S. 31.

Einfluſs sehr wohl zur Geltung, indem jetzt die Umsetzung mit den Chloriden, Sulfaten und Karbonaten allmählich vor sich gehen kann und so ein Teil des ursprünglich gebildeten löslichen Bleisalz in unlösliches übergeht, also der Lösung entzogen wird und durch Bildung einer Schichte an den Rohrwandungen einen weiteren Bleiangriff wesentlich erschweren wird. Es kommt also beim Stehen des Wassers in der Leitung namentlich der Überschuſs der Chloride, Sulfate und Karbonate gegenüber den Nitraten in Betracht, und hiermit scheint die auf den ersten Blick auffallende Erscheinung, daſs das stehende Wasser weniger Blei aufgelöst hatte als das flieſsende, ziemlich ungezwungen erklärt. Es soll diese Erklärung nicht als die einzig mögliche hingestellt und der Einfluſs des Luftsauerstoffs, der ja immerhin im flieſsenden Wasser mehr zur Geltung kommen könnte als im stehenden, dadurch in Abrede gestellt werden.

Was die Erklärung des Bleiangriffs überhaupt anbelangt, kann man der Anschauung, welche sich Ružička[1]) hierüber bildet, vollkommen beipflichten; nur hat man, wie ich glaube, nicht notwendig, bei der Einwirkung des hloſsen destillierten Wassers auf Blei die Anwesenheit von gelöster Luft bzw. Sauerstoff anzunehmen[2]), da ja das destillierte Wasser selbst zu einem (wenn auch geringen) Teile jonisiert ist und die Anwesenheit von geringen Mengen von freien H- und OH-Jonen die Bildung des Bleioxydhydrates auch im destillierten Wasser hinreichend erklärt. Aus den Tahellen, welche Ružička hei seinen Experimenten über den Einfluſs der verschiedenen Salze auf die Löslichkeit des Bleies in Wasser aufgestellt hat, geht ferner hervor, daſs dieser Einfluſs durchwegs und zwar bei verhältnismäſsig kleiner Konzentration der Lösungen ein Maximum erreicht, welches sehr wahrscheinlich das Maximum der Jonisation des betreffenden Salzes anzeigt, bei welchem der stärkste Bleiangriff erfolgt. Bei zunehmender Konzentration erfolgt dann wieder eine Ahnahme der Bleilöslichkeit. Es scheint nicht unwichtig,

1) Archiv f. Hygiene, 41, S. 42.

2) R. sagt »destilliertes Wasser, welches angeblich Luft resp. Sauerstoff enthalten muſs«.

auf diese Tatsache hinzuweisen, wiewohl der obgenannte Autor selbst es unterlassen hat, weil sie vollkommen in Einklang mit den Jonisationsvorgängen steht.

Auch die Bildung der salpetrigen Säure ist auf diese Vorgänge zurückzuführen. Denn die im Wasser vorhandenen H-Jonen (von der Jonisation des Wassers herstammend) und die aus den Nitraten stammenden $NO_3$-Jonen wirken bleilösend; der hierdurch disponibel werdende Wasserstoff hat nun Gelegenheit, auf einen Teil der vorhandenen Nitrate reduzierend zu wirken und dadurch die Bildung von salpetriger Säure bzw. Nitriten zu veranlassen.

Bei allen diesen Lösungsvorgängen hat sich auch im vorliegenden Fall die Schwefelung der Bleirohre, welche auch in Österreich durch einen Ministerial-Erlafs vom 27. November 1884 gefordert wird, ziemlich illusorisch erwiesen. Darauf haben früher schon Bělohoubek, Hammon und Reichardt hingewiesen. Die leichte und stets ungleich dichte oberflächliche Schichte von Schwefelblei, welche sich bei der üblichen Schwefelung bilden kann, bietet sicher den Angriffen der einzig und allein bei einer Bleilösung in Betracht kommenden Säuren der betreffenden Salze kein genügendes Hindernis. Im vorliegenden Falle ist das zum mindesten als erwiesen zu betrachten, da der Bleiangriff erfolgte, trotzdem die Rohre geschwefelt waren. Geschwefelte dürften daher ungeschwefelten Rohren ziemlich gleichzuhalten sein und zur Beurteilung, ob in einem konkreten Falle Bleiröhren überhaupt zuzulassen sind, lediglich das betreffende Wasser nach eingehenden Versuchen bezüglich seiner Fähigkeit, Blei anzugreifen, zu gelten haben.

# Die Bakteriendurchlässigkeit der normalen Magendarmschleimhaut im Säuglingsalter.

Von

Dr. med. **R. Hilgermann.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. M. Rubner.)

(Mit Tafel II.)

In der kürzlich erschienenen Arbeit[1]) Fickers, in welcher letzterer die Durchtrittsmöglichkeit von Bakterien durch die normale Schleimhaut des Intestinaltraktus säugender Tiere kulturell erwiesen hatte, deutete er bereits auf den Wert des Studiums von Schnittpräparaten hin, um oben erwähnte Übertrittsverhältnisse und das Verhalten des Schleimhautepithels noch genauer prüfen und präzisieren zu können.

Auf Anregung von Herrn Geheimrat Rubner habe ich in Gemeinschaft mit Herrn Professor Dr. Ficker, dem ich an dieser Stelle für seine Unterstützung und Anleitung bei Abfassung der Arbeit meinen herzlichsten Dank ausspreche, einige weitere Fütterungsversuche an neugeborenen Tieren gemacht und deren Ergebnisse vom pathologisch-anatomischen Gesichtspunkt aus festzustellen versucht. Gemäfs der Versuchsanordnung Fickers in seiner Arbeit wurde wiederum ein Bazillus aus der Gruppe der säurefesten und zwar der unbewegliche Blindschleichentuberkelbazillus gewählt, dessen Nachweis in der Darmwand oder

1) M. Ficker, Über die Keimdichte der normalen Schleimhaut des Intestinaltraktus. Archiv f. Hygiene, Bd. 52.

den Organen unschwer ist. Um aber den etwaigen Einwurf zu entkräften, dafs es sich hierbei doch immerhin um einen infektiösen Keim handle, kam aufserdem ein nicht infektiöser Bazillus aus der Gruppe der säurefesten, der »Petribazillus«, noch zur Verwendung.

**Versuch I.**

Einem 1 Tag alten Kaninchen wird aus der Pipette ca. 1 ccm einer Aufschwemmung von 2 Blindschleichentuberkulose-Agarkulturen in ca. 50 ccm Milch auf die Zunge geträufelt. Das Tier macht deutliche Schluck- und Saugbewegungen. Nach $1^1/_2$ Stunden Tötung durch Strangulation und sofortige Sektion. Magen, Milz, Leber und Nieren werden in toto in 6proz. Formaldehydlösung gelegt, der Darm in kleinste, ca. $^1/_4$—$^1/_2$ cm lange Stückchen zerschnitten und ebenfalls in Formalin gebracht. Darauffolgende Paraffineinbettung teils nach dem Verfahren von Lubarsch, teils gemäfs dem von Henke[1]) angegebenen Azeton-Paraffinverfahren.

Von dem Magen- und Darmtraktus wurde sodann in verschiedenen Höhen mit Berücksichtigung der einzelnen Übergänge Serien in der Schnittdicke von 5—10 $\mu$ gefertigt. Färbung mit Hämatoxylin-Karbolfuchsin nach der Ziehl-Nielsenschen Methode oder mit Karbolfuxin-Methylenblau.

**Versuch II.**

Meerschweinchen, 1 Tag alt, wird mit der gleichen Suspension gefüttert. Weitere Versuchsanordnung wie bei Versuch I.

**Versuch III.**

Kaninchen, 1 Tag alt, erhält eine Aufschwemmung von 5 Ösen einer 48 Stunden alten Petribazillenaufschwemmung in 2 ccm sterilem Wasser auf die Zunge geträufelt. Tötung nach $1^1/_2$ Stunden durch Strangulation und sofortige Sektion.

Die Organe werden teils in 6proz. Formaldehydlösung, teils in Zenkerscher Lösung gelegt.

Paraffineinbettung und Färbung wie bei Versuch I.

Parallel mit diesen Verfütterungsversuchen wurden Kontrollprüfungsversuche angelegt behufs Feststellung der Fixationsfähigkeit der zur Anwendung gelangenden Lösungen. Es wurden 3 Ösen der verwandten Kulturen sowohl in Formalin als in Zenkerscher Lösung aufgeschwemmt und von dieser Aufschwemmung je 5 Ösen nach 5, 10, 15 und 20 Minuten in Bouillon übertragen. Gleichzeitige Anlegung von Kontrollröhrchen,

1) Henke-Zeller, Azeton-Paraffin-Schnelleinbettung. Zentralbl. f. allgem. Pathologie u. patholog. Anatomie, Bd. XVI, Nr. 1.

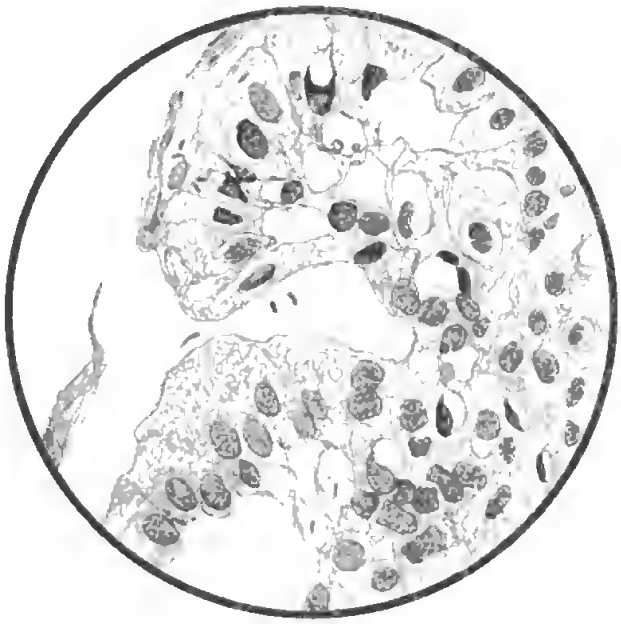


Fig. 1.

Fig. 2.

n R. Oldenbourg, München u. Berlin. Lith. F. Reichhold, München

d. h. es wurden Bouillonröhrchen mit 1 Nadelspitze Kultur und 5 Ösen der verwandten Fixationsflüssigkeiten beschickt. Sämtliche Röhrchen wurden durch ca. 8 Tage beobachtet. Die Röhrchen der Serie I blieben steril, die Kontrollröhrchen dagegen waren stets positiv. Aufserdem wurden noch späterhin von sämtlichen Röhrchen Agarplatten angelegt, die dasselbe Resultat wie oben ergaben.

Postmortale Wachstumsvorgänge, bedingt durch ungenügendes Abtöten der Kulturen innerhalb der verwendeten Fixationsflüssigkeiten, sind also auszuschliefsen.

Die durch die Versuche I und III, also beim Kaninchen gewonnenen Serienschnitte ergaben zunächst, dafs die verfütterten Bakterien im Magen einer Auflösung nicht anheimgefallen, sondern dafs sie in den Darmkanal selbst gelangt waren.

In den oberen Partien des Dünndarmes liefsen sie sich am reichlichsten nachweisen, um sodann gegen das Gebiet des Dickdarmes hin und in diesem selbst allmählich an Intensität abzunehmen. In der Lagerung der Bakterien innerhalb des Lumens war eine gewisse Gruppierung insofern zu erkennen, als sie sich im Magen und Dünndarm teils im freien Lumen selbst befanden, teils in kleineren Häufchen der Höhe der Zotten angelagert waren. Im Dickdarm hingegen fanden sich wohl im Anfangsgebiet spärliche Häufchen, weiterhin aber nur einzelne, versprengte Keime.

Aufser dieser Passage der Bakterien in den Darmtraktus konnte ferner sowohl im Magen, als auch im Verlaufe des ganzen Darmkanals ein Durchtritt in die Schleimhaut selbst konstatiert werden. Abgesehen von einzelnen, ohne besonderes Bindeglied übergetretenen Bazillen, möchte ich gemäfs der Übereinstimmung der verschiedenen Bilder eine Art etappenförmige Lagerung der Bakterien in der Schleimhaut annehmen.

Betrachten wir uns im mikroskopischen Bilde die Magenschleimhaut, so sehen wir zunächst, wie bereits oben angegeben, Bakterien der Höhe der Zotten angelagert. Diese Anlagerung einzelner Bakterien, vielleicht von dem übrigen, unge-

hindert passierenden Hauptteil passiv abgesondert, vielleicht auch durch aktive Kräfte zur Resorption herangezogen, dürfte die erste Stufe und gewissermafsen den Stützpunkt für den Eintritt bilden. Läfst sich doch gerade an dieser Stelle das typisch-stufenförmige Vordringen der Bakterien studieren. Schon an diesen Bakterienhäufchen selbst kann man eine losere und eine engere Anlagerung an die Zotte erkennen. Etwas abgelöst von dem eigentlichen Häufchen sieht man, wie ein vorgeschobener Bazillus sich auf das innigste dem achsialsten Teil der Zelle anlagert, fast als ob sein Durchgang in die Schleimhaut unmittelbar bevorstände. In einem zweiten Stadium ist ein anderer bereits im Zustande des Übertritts zu erkennen, wie er gerade durch die Schleimhautgrenze hindurchschlüpft. Besonders gut läfst sich dieser Eintritt in die Schleimhaut studieren, wenn der Bazillus noch halb im freien Lumen, halb in der Zellpartie gelagert anzutreffen ist. In den verschiedensten Richtungen vollzieht sich der Übergang, bald sind die Bazillen direkt senkrecht, bald schräg, bald horizontal gelagert. Immer aber handelt es sich, um diesen Punkt noch einmal hervorzuheben, um vereinzelte Bakterien, die in der Zahl ihres Übertritts in keinem Verhältnis zu der des Lumeninhaltes stehen. Als Folge auf diesen im Durchtritt begriffenen Bazillus kann man sodann einen anderen, d. h. den nächst vorhergegangenen wohl, bereits völlig durchgetreten sehen. Seinen Abschlufs findet also dieser Übertritt mit der Lagerung des Bazillus in der Zelle selbst. In der Zelle ist die Lagerung eine stets völlig gleichartige: in der Mitte des Protoplasmas zwischen Kern und Grenze der Zelle (Fig. I).

Gemäfs den Difseschen[1]) Untersuchungen über die unvollkommene Schleimbildung in jugendlichen Zellen wird diese Lagerung mitten im Protoplasma verständlich. Geschlüpft durch die Lücken des natürlichen Schutzwalles des vorerst noch aus einzelnen zusammenhangslosen Kugeln bestehenden Schleimüberzuges, mufs der Bazillus, tritt er in die Zelle ein, an dieser Stelle des Protoplasmas zu liegen kommen. Eine Kombination von

1) Difse, Untersuchungen über die Durchgängigkeit der jugendlichen Magendarmwand für Tuberkelbazillen. Berliner klin. Wochenschr., 1903, S. 4.

Schleim- und Bazillenfärbung, die wohl am ehesten in diese Verhältnisse Klarheit bringen könnte, ist mir nicht gelungen.

Handelt es sich nun wirklich bei diesen Bildern um eine Aufnahme seitens der Schleimhaut, nicht um ein Kunstprodukt beim Einbetten oder Schneiden, so mufs man die Bakterien auch weiterhin verfolgen können. Ist ja doch eine Verschleppung der Bakterien, sind sie einmal in die Zelle gelangt, auf dem Wege der Blut- oder Lymphbahn, leicht erklärbar. In der Tat folgte auf die Lagerung in der Zelle — wie die mikroskopischen Bilder zeigten — der Durchtritt in das Zottenlumen und schliefslich in die inneren Organe, vor allem in die Milz. Letzteres habe ich vorweggenommen, da ja diese Ergebnisse für den Magen wie den Darm gleichbedeutend sind.

Was den Darm anbetrifft, so wurde sowohl der Dünndarm, als der Dickdarm, besonders auch der proc. vermif. untersucht. Hier zeigte sich ein wesentlicher Unterschied in der Anzahl der durchgetretenen Keime im Verhältnis von Dünn- und Dickdarm. Während im Dünndarm, zumal im oberen Drittel, ein reichlicher Übertritt erfolgt war, nahm derselbe im Dickdarm bedeutend an Stärke ab. Nur noch vereinzelte Bakterien wurden innerhalb der Schleimhaut gefunden. Zieht man aber in Betracht, was ich oben bereits über die geringe Anzahl der Bakterien im Lumen des Dickdarmes sagte, so wird diese anscheinend verminderte Schleimhautdurchgängigkeit verständlich. Ist doch sicherlich von der jedesmaligen Menge der Bakterien im Lumen die Durchtrittsmöglichkeit durch die Schleimhaut abhängig.

Im allgemeinen boten die mikroskopischen Bilder des Darmes Übereinstimmung mit denen des Magens, indem auch sie einen allmählichen Übertritt der verfütterten Bakterien zeigten. Erst wiederum die Anlagerung der Bakterien auf der Höhe der Zelle, dann der Durchtritt und schliefslich ihre Lagerung im Protoplasma (Fig. II).

Im proc. vermif. waren die Übertrittsverhältnisse denen im Dünndarm gleich zu achten, eine stärkere Beteiligung also direkt nicht vorhanden. Bedenkt man aber, dafs die Knickung des proc. vermif. eigentlich an und für sich eine Passage für

durchgehende Fremdkörper einschränken müfste, so kann man in Erwägung der gleichen Übertrittsverhältnisse wie im Dünndarm immerhin von einer stärkeren Beteiligung sprechen. Da ferner der proc. vermif. gerade zu Entzündungen und Läsionen geneigt ist, so ist er vielleicht doch als Prädilektionsstelle für einen Übertritt von Bakterien in Betracht zu ziehen.

Die in Vorstehendem angegebenen Resultate beziehen sich auf die Versuche I und III, also beim Kaninchen. Bei dem Versuch II, bei dem das Meerschweinchen als Versuchstier benutzt wurde, zeigten die Untersuchungsergebnisse, obwohl der Versuch in derselben Weise wie beim Kaninchen ausgeführt worden war, das Tier also die ungefähr gleiche Bakterienmenge erhalten haben mufste, wesentliche Unterschiede gegenüber Versuch I und III. Fanden sich beim Kaninchen die verfütterten Bakterien in reichlicher Menge im Lumen des Magen- und Darmkanals wieder, so war beim Meerschweinchen ein bedeutend geringeres Vorhandensein derselben zu konstatieren, insonderheit zeigte das Lumen des Magens dieselben nur in spärlichen Resten. Was die Eintrittsverhältnisse in die Schleimhaut selbst anbetrifft, so habe ich im Magen einen Übertritt nicht finden können. Im Darm war ein Eintritt in die Schleimhaut wohl erfolgt, doch waren nur ganz vereinzelte Bakterien übergetreten, auch diese meist noch im Anfangsstadium des Übertritts. Der Schleimhautoberfläche eng angelagert, sah man öfters vereinzelte Bakterien, ohne aber gleichzeitig einen Eintritt finden zu können, fast gewann man hierbei den Eindruck, als ob die Bakterien durch einen natürlichen Wall, den die Schleimhautoberfläche zu bilden schien, nicht hindurchdringen könnten. Sicherlich waren die Durchtritts- und Eingangsverhältnisse in die Schleimhaut nicht mit denen beim Kaninchen zu vergleichen. Während hier ein deutlich stufenförmiges Eintreten beobachtet werden konnte, das unbehindert vor sich zu gehen schien, konnte beim Meerschweinchen nur von einem vereinzelten und mühsamen Eindringen die Rede sein. Ob hierbei Rassenunterschiede, bzw. besondere Schutzvorrichtungen der Schleimhaut mitsprachen, kann zurzeit nicht entschieden werden.

Mit dem Beweis des Eintritts der Bakterien in die Schleimhaut ergab sich die weitere Frage, welche Faktoren diesen Durchtritt ermöglicht haben konnten, und auf welchem Wege derselbe erfolgt sein mochte. Zunächst lag gewifs der Gedanke nahe, an einzelne, zufällig vorhandene Läsionsstellen zu denken. Diese Annahme war aber auszuschliefsen, da sich zeigte, dafs der Übertritt nicht an einzelnen Punkten, sondern im Verlaufe der ganzen Länge des Magen-Darmkanals erfolgt war. Ebensowenig konnte bei der immerhin grofsen Anzahl verfütterter Keime von einem natürlichen Überfluten, von einer durch Reizwirkung hervorgebrachten direkten Eintrittsmöglichkeit die Rede sein. Wäre dies wirklich der Fall gewesen, dann hätten viel zahlreicher und nicht in so typisch-vereinzelter Anordnung innerhalb der Zellen und Zotten die Bakterien durchtreten müssen. Besteht ferner ein Unterschied zwischen Meerschweinchen und Kaninchen in ihrer Aufnahmefähigkeit für Bakterien wirklich zu recht, so würden gerade die beim Meerschweinchen gefundenen Verhältnisse letztere Behauptung bestätigen, indem hier trotz einer geringen Menge von Bakterien innerhalb des Darmlumens doch Bakterien übergetreten waren. Auch wäre vom technischen Standpunkt aus ein Durchtrittsnachweis einzelner verfütterter Keime bei der grofsen Länge des Magen-Darmkanals unmöglich gewesen.

Viel näher liegt wohl der Gedanke, zu glauben, dafs gemäfs der Behauptung v. Behrings die Schleimhaut im jugendlichen Alter der natürlichen Schutzstoffe entbehre, um einen Übertritt durchwandernder Bakterien verhindern zu können.

Der Nachweis der verfütterten Keime in inneren Organen dürfte ferner den Einwurf entkräften, dafs es sich bei diesen Lagerungsverhältnissen innerhalb der Schleimhäute vielleicht um eine mechanische Einwirkung beim Einbetten oder beim Schneiden handeln könnte. Gegen diese Annahme spricht auch der Umstand, dafs ich sowohl beim Magen wie beim Darmtraktus die Bakterien innerhalb der Zotten auch an Stellen gefunden habe, wo weder auf der Zottenhöhe noch in der sichtbaren Peripherie des Lumens Bakterienhaufen vorhanden waren.

Es bleibt noch die Frage offen, an welcher Stelle eigentlich der Durchtritt erfolgt sei. Ob nun, wie Difse nachgewiesen, die mangelhafte Schleimbildung im jugendlichen Alter wenigstens für den Magen, oder ob die Interzellularräume- und Brücken einen Durchtritt begünstigen, oder ob die Zelle selbst aktive Funktionen übernimmt, entzieht sich der Beobachtung. Gemäfs dem oben beschriebenen stufenweisen Eintreten möchte ich aber glauben, dafs es sich um eine aktive Tätigkeit seitens der Schleimhaut handele. Bei dieser gewissermafsen sich aneinander reihenden Lagerung der Bakterien ist wohl eine Tätigkeit der Zelle selbst, event. ein Weiterschleppen durch dazu befähigte Zellen, anzunehmen.

Mit dem Nachweis, dafs Bakterien durch die noch ungeschützte Magendarmwand aufgenommen werden können, darf auch mit einer Infektionsmöglichkeit im jugendlichen Alter gerechnet werden. Denn ähnlich wie bei den Fütterungsversuchen, bei denen eine gröfsere Menge Bakterien den Magen-Darmtraktus überschwemmt, liegen schliefslich auch die Verhältnisse bei einer bakterienhaltigen Ernährung, bei der die stete Summation dem augenblicklichen Reichtum an Bakterien der Fütterungsversuche ziemlich gleichzusetzen ist.

## Erklärung der Abbildungen.

Figur I. Leitz: Okul. I. Obj. $^1/_{12}$ Öl-Immersion. Tubuslänge 170 mm. Technik: Paraffineinbettung, Hämatoxylin-Karbolfuchsin. Das Bild zeigt einen Durchschnitt durch die Schleimhautoberfläche des Kaninchenmagens. Die Tuberkelbazillen sind teils im freien Lumen, teils bereits in den Epithelzellen selbst gelagert.

Figur II. Leitz: Okul. I. Obj. $^1/_{12}$ Öl-Immersion. Tubuslänge 170 mm. Technik: Paraffineinbettung, Karbolfuchsin-Methylenblau. Figur II gibt einen Querschnitt und einen Längsschnitt einer Dünndarmzotte vom Kaninchen wieder. Die Tuberkelbazillen sind sowohl im Begriffe des Durchgangs durch die Schleimhautoberfläche als auch innerhalb der Zellen.

# Blutparasiten und Erythrocytolyse.

Von

Dr. **A. Nifsle.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. M. Rubner.)

Am Schlusse eines kürzlich in diesem Archiv erschienenen Aufsatzes habe ich auf die engen Beziehungen hingewiesen, die zwischen dem Verschwinden von Trypanosomen aus der Blutbahn eines infizierten Tieres und dem gleichzeitigen Auftreten einer bisweilen erheblichen Anämie bestehen, mochte die Heilung oder Remission eine spontane oder eine durch künstliche Mittel herbeigeführte sein. Hierin zeigten auch alle drei mir zu Gebote stehenden Trypanosomenarten, Tr. Brucei, Tr. equinum und Tr. Lewisii keine prinzipiellen Unterschiede.

Diese Erscheinung tritt naturgemäfs um so deutlicher hervor, je reichlicher Trypanosomen im Blut vorhanden sind und je akuter sie daraus verschwinden; denn so wird es dem Blutregenerationsapparat unmöglich, für die gleichzeitig erfolgte Zerstörung von roten Blutkörperchen auch nur mit minderwertigem Material in der nächsten Zeit einen irgendwie erheblichen Ersatz zu schaffen. Dementsprechend liegen die Resultate der Blutkörperchenzählung in diesen Fällen weit aufserhalb der Fehlergrenzen; bei meinen Versuchen an kleinen Tieren betrugen die Differenzen stets Millionen pro Kubikmillimeter.

Von dem zeitlichen Zusammenfall der beiden Erscheinungen kann man sich am besten in der Weise überzeugen, dafs man Mäuse, die schon einigermafsen reichlich Cadérastrypanosomen oder die von Martini aus einem Togohengst gewonnene Naganaparasiten aufweisen, mit schwachen Trypanrotdosen, etwa 0,2—0,3 der 1proz. Lösung pro 15 g Maus, behandelt. Unter diesen Bedingungen tritt häufig in 24 Stunden noch keine Heilwirkung ein, im Gegenteil haben sich die Trypanosomen in dieser Zeit manchmal noch vermehrt und ebenso findet man die Zahl der roten Blutkörperchen kaum oder doch nur wenig vermiudert, und erst am Tage darauf läfst sich das Verschwinden der Trypanosomen und das gleichzeitige Einsetzen der oft recht erheblichen Anämie mit Sicherheit konstatieren. Dieser Synchronismus tritt aber auch bei den spontanen Remissionen, wie sie im Verlauf einer Cadéras- oder Naganainfektion bei Meerschweinchen häufig zn beobachten sind, sowie bei Ratten unmittelbar nach der spontanen Heilung von einer Infektion mit Tr. Lewisii deutlich hervor, vorausgesetzt, dafs Remission bzw. Heilung einigermafsen akut verlaufen.

Es lag daher nahe, zu prüfen, ob Stoffe, die anerkanntermafsen Hämolyse hervorbringen, auch imstande sind, die Parasiten zu beeinflussen. In der Tat ist es mit derartigen Substanzen — nach den bisherigen Versuchen besonders mittels Toluylendiamin — gelungen, Trypanosomen selbst bei ziemlich weit vorgeschrittenen Erkrankungen teils bis auf vereinzelte Exemplare, teils vollständig, wenn auch nur zeitweise, zum Verschwinden zu bringen. Von den Resultaten dieser Versuche mag in diesem Aufsatz nur erwähnt werden, dafs auch hier manchmal erst am zweiten Tage die Wirkung sich zeigte, und dafs in solchen Fällen die Blutkörperchenzählung die gleichen Veränderungen ergab, wie sie eben bei der Anwendung von Trypanrot geschildert wurden. Reichte die Dosis nicht hin, eine deutliche Hämolyse zu erzeugen, so war auch eine Verminderung der Flagellaten nicht zu konstatieren.

All diese Beobachtungen waren geeignet, in mir immer mehr die Überzeugung zu befestigen, dafs Vernichtung der Trypa-

nosomen und Hämolyse die eng miteinander verbundenen Funktionen einer Substanz darstellen. Da die Anhäufung dieser Substanz bei Infektionen von Ratten mit Tr. Lewisii zu lang dauernder Immunität führt, so halte ich auch in allen Fällen, wo es zu einer spontanen Verminderung von Trypanosomen unter gleichzeitiger Blutkörperchenzerstörung kommt, die Annahme für berechtigt, dafs das wirksame Prinzip von Körperzellen erzeugt wird, die in dieser Weise auf die Schädigung reagieren, welche durch Einwirkung der im Blut enthaltenen Parasiten entsteht.

Wenn nun auch die Schädigung, auf die eine chemische Reaktion erfolgt, in letzter Linie selbst chemischer Natur sein mufs, so dürfen doch wohl mechanische Momente, wie das Eindringen von Trypanosomen in Erythrozyten und ihr Durchschlüpfen durch dieselben, auf die ich in meiner vorigen Arbeit aufmerksam machte, als Vorbedingungen in Betracht gezogen werden. Dafür spräche die Tatsache, dafs das Durchschlüpfen durch die Blutkörperchen besonders häufig bei längerem Vorhandensein zahlreicher Flagellaten im Blut, also auch kurz vor den Remissionen beobachtet werden kann. Anderseits mag auch allein schon eine Erklärung in dem Sinne ausreichend erscheinen, dafs die Trypanosomen als tierische Zellen in ihrer chemischen Zusammensetzung eine relative Ähnlichkeit mit den Erythrozyten besitzen und durch ihre Anhäufung deshalb auch eine gegen diese gerichtete Reaktion auslösen; denn vorläufig liegt für mich kein Grund vor, die Blutkörperchenauflösung nur als eine Nebenwirkung eines Zellimmunkörpers aufzufassen, wie sie v. Dungern als solche bei seinen Versuchen über Epithelimmunserum festgestellt hat, da doch sonst eine bisher wenigstens als rein hämolytisch bekannte Substanz, wie das Toluylendiamin, nicht gleichzeitig in solchem Mafse die Trypanosomen zerstören könnte.

Auf die Tatsache, dafs die Beziehungen zwischen Trypanosomen und roten Blutkörperchen enger sind als zuerst scheinen mag, deuten aufser den in meinem letzten Aufsatz angeführten Beobachtungen eine Anzahl wesentlicher Übereinstimmungen mit

dem Verlauf einer Blutkrankheit, bei der die endoglobuläre Lage des Erregers von vornherein auf nähere Beziehungen zwischen ihm und dem Erythrozyten schliefsen läfst, nämlich der menschlichen Malaria und besonders des auf dieser Basis entstandenen Schwarzwasserfiebers.

Ehe ich auf eine Untersuchung derselben eingehe, möchte ich noch auf eine Erfahrung hinweisen, die ich an der Wirkungsweise von verschieden grofsen Dosen solcher Stoffe machen konnte, welche Trypanosomeninfektionen günstig beeinflussen. Der sichtbare Effekt steigt nämlich nicht gleichmäfsig proportional der angewandten Menge des Mittels, sondern mehr sprungweise, so dafs er graphisch als eine terrassenförmig ansteigende Linie, deren erster Abschnitt in der Abszisse selbst verläuft, dargestellt werden müfste. Bei manchen Stoffen mufs man sogar weit über 50% derjenigen Menge hinausgehen, die gerade zur vollkommenen Beseitigung der Trypanosomen erforderlich ist, um überhaupt einen, wenn auch meist gleich reichlichen Erfolg zu erzielen; und das ist ja auch natürlich, da man doch wohl annehmen mufs, dafs die Widerstandsfähigkeit eines grofsen Teils der Parasiten ungefähr die gleiche ist. Deshalb ist es auch kaum zu verwundern, wenn auch die spontanen Verringerungen der Parasitenanzahl, mag es sich um Remission oder Heilung handeln, sehr häufig ebenfalls deutlich sprungweise erfolgen; besonders tritt dies bei der Infektion von Ratten mit Tr. Lewisii hervor. Die Anhäufung von Antikörpern mufs eben erst einen gewissen Grad erreicht haben, ehe ihre Wirkung manifest werden kann.

Wenn ich nun dazu übergehe, die menschliche Malaria zum Vergleich mit den bei Trypanosomiasis gewonnenen Resultaten heranzuziehen, so ist für die Auswahl dieser Bluterkrankung aufser der endoglobulären Lage der Parasiten das Vorhandensein der grofsen Menge von Literatur mafsgebend gewesen, die den Mangel entsprechender, eigener Versuche bis zu einem gewissen Grade zu ersetzen vermag.

Ich beginne mit dem Schwarzwasserfieber, da hier die Hämolyse in den Vordergrund der Erscheinungen tritt und deshalb am genauesten studiert worden ist.

In der Mehrzahl der Fälle sind es zwei Momente, die bei dieser Erkrankung konstatiert werden können, das Vorhandensein von Malaria uud eine dem Anfall kurz voraufgegangene Chiuingabe. Dazu ist zu bemerken, dafs für das Chinin auch manche anderen Medikamente eintreten können wie Phenacetin, Salipyrin, Methylenblau (F. Plehn, A. Plehn, Kleine, Panse), ferner Erkältungen, Überanstrengungen, Verletzungen (A. Plehn), dafs aber auch sichere Fälle beobachtet worden sind, wo aufser der Malaria keine weiteren Anhaltspunkte gefunden werden konnten (A. Plehn, Daniels, Moffat); ».... uud selbst ohne nachweisbare besondere Veranlassung tritt der Blutzerfall zuweilen im Verlauf eines Malariafiebers ein« (A. Plehn).

Dagegen dürfte heutzutage die auf vielen Erfahrungen beruhende Ansicht kaum mehr ernstlichen Zweifeln begegnen, dafs Schwarzwasserfieber nur bei Malariakranken vorkommt; daran kann auch der ganz vereinzelt dastehende, von Krönig veröffentlichte Fall einer Sepsis nichts ändern, bei dem auf 1 g Phenacetin Ikterus, Hämoglobinurie und Temperatursteigerung eingetreten war. Anderseits verursacht Chinin allein auch in hohen Dosen niemals Hämoglobinurie.

R. Koch hat zuerst festgestellt, dafs Schwarzwasser nicht nur bei Tropica, sondern auch bei Tertiana beobachtet werden kann; Otto führt aufserdem einen Fall an, bei dem Quartanaparasiten als Malariaerreger diagnostiziert worden wareu.

Da das Schwarzwasser nur in bestimmten Bezirken heimisch ist, so hat Koch ferner das Klima als disponierendes Moment beschuldigt, doch kann auch diese Theorie keine absolute allgemeiue Gültigkeit beanspruchen, da, wie der Ottosche Fall beweist, die Disposition bisweilen auch in unsern Breiten erworben wird.

Die Beschränkung des Schwarzwasserfiebers auf bestimmte Bezirke, die allerdings in Afrika nach F. Plehns Angaben deutlich an Umfaug gewiuuen, sucht dieser Autor mit der eventuellen Verbreitung bestimmter Arten der Malariamücken zu erklären. Stephens nimmt eine höhere Virulenz der Parasiten und eine Änderung der Koustitution der in Schwarzwassergegenden

lebenden Europäer an. A. Plehn glaubt, »dafs die Schwarzwasserdisposition auf einer zeitweisen funktionellen Erschöpfung der blutbereitenden Organe beruht, und dafs diese Erschöpfung infolge der übermäfsig gesteigerten Regenerationstätigkeit eintritt, welche notwendig wird, um die durch latente und manifeste Malaria fortgesetzt geschaffenen Verluste zu deckeu.« F. Plehn führt die Disposition auf die gelegentliche Bilduug eines Blutgiftes durch die Malariaparasiten zurück, welches die Blutkörperchen aufserordentlich geneigt zum Zerfall mache.

Dafür, dafs die Menge der Parasiten nicht in Betracht kommt, sind besonders zwei von Koch beobachtete Fälle beweisend, die tödlich verliefen, aber, obgleich in dem einen 30, in dem andern gar 80% der Erythrozyten infiziert wareu, keine Spur von Hämoglobinurie zeigten; im Gegensatz dazu berichtet Koch über Schwarzwasserfälle, die vor Beginn der Hämoglobinurie nur ganz spärliche Parasiten aufwiesen.

Nun ist bisher allen, die Schwarzwasserkranke zu beobachten Gelegeuheit hatten, aufgefallen, dafs bei der grofsen Mehrzahl der Patienten mit dem Anfall die Parasiten verschwinden. Der Zeitpunkt des Verschwindens hängt von der Schnelligkeit und Ausdehnung des Blutzerfalles ab (A. Plehn); dieses selbst erfolgt zweifellos rascher als bei einer uuter Chininbehandlung normal verlaufenden Malaria (Panse). Aufserdem deutet das relativ häufigere und längere Ausbleiben von Rezidiven, auch wenn kein Chinin weiter gegeben wurde, darauf hin, dafs die Chininwirkung nicht unmittelbar mit dem Verschwinden der Parasiten in Zusammenhang stehen kann.

Wollte man nun annehmen, dafs die mit Parasiten besetzten Erythrozyten zuerst und mit diesen die Parasiten bei der Hämolyse zerstört werden, so müfsten nach dem Anfall die Parasiten jedesmal vermifst werden.

Eine verhältnismäfsig einfache Erklärung findet diese Erscheinung erst, wenn man die Resultate, welche die Beobachtungen am trypanosomenkranken Tieren ergeben haben, heranzieht und auch hier aunimmt, dafs während jeden Malariaanfalls mikrobizide Stoffe als Reaktion auf die Anwesenheit

bzw. Vermehrung der Parasiten von Zellen geschaffen und aufgespeichert werden, und dafs auch hier mit der mikrobiziden Eigenschaft dieser Stoffe eine hämolytische eng verbunden ist. Diese letztere tritt bei Schwarzwasserfieber in den Vordergrund und zeigt an, dafs, wenn dieses spontan eingetreten ist, die Konzentration der Antikörper einen Grad erreicht hat, bei dem gleichzeitig mit der Parasitenvernichtung eine ausgedehnte Hämolyse erfolgen mufs, also genau so, wie es die Beobachtungen an trypanosomenkranken Tieren ergeben haben.

In allen den Fällen, wo kurz nach Verabreichung von Chinin oder ähnlichen Medikamenten Schwarzwasser entstanden ist und mit ihm die Malariaparasiten ganz oder fast ganz verschwunden sind, ist anzunehmen, dafs dieser Konzentrationsgrad der reaktiven Stoffe, spontan wenigstens, bisher nicht erreicht wurde, sondern dafs erst durch das Hinzutreten der in der gleichen Richtung sich erstreckenden Chininwirkung die Bedingungen für das Entstehen der Hämoglobinurie erfüllt wurden. Damit soll natürlich nicht gesagt sein, dafs auch ohne das Chinin, nur später, die Hämolyse mit derselben Heftigkeit hätte eintreten müssen.

Wesentlich seltner sind die Fälle, bei denen mit dem Schwarzwasseranfall keine deutliche Verminderung der Parasiten Hand in Hand geht. Über diese Ausnahmefälle auf sichere Beobachtungen gestützte Erklärungen aufzufinden, ist mir bisher nicht möglich gewesen. Doch scheint es, als ob in einem Teil die besonders hochgradige Schwäche des Organismus eine normale Anhäufung von Immunkörpern während der Malariaanfälle hat vermissen lassen, da unter diesen Bedingungen ebenso wie die andern Funktionen des Körpers auch die Fähigkeit gelitten haben mufs, in ausreichendem Mafse Schutzstoffe gegen Krankheitserreger zu produzieren; anderseits zeigen Fälle wie der von Schlayer veröffentlichte, dafs unter Umständen gleich nach dem ersten Malariaanfall Schwarzwasserfieber einsetzen kann, also zu einer Zeit, in der man die Aufspeicherung antiparasitärer Stoffe in irgendwie erheblicher Menge noch nicht zu vermuten berechtigt ist (vorhergehender, längerer, das Fieber vollkommen

hintanhaltender Chiningebrauch, nach Aussetzen erstes Fieber in der Heimat, auf 0,75 Phenazetin Hämoglobinurie).

Bei der einfachen Malaria treten Hämolyse und Parasitenvernichtung nicht in dem Mafse hervor wie beim Schwarzwasserfieber; doch wissen wir, dafs mit jedem Anfall, dessen Beginn bekanntlich mit der Schizogonie zeitlich zusammenfällt, eine mehr oder minder weitgehende Zerstörung von roten Blutkörperchen verbunden ist, und ferner, dafs dieselbe nicht von der Menge der vorhandenen Parasiten abhängt, sondern eventuell bedeutende Dimensionen annehmen kann, ohne dafs die Zahl der Parasiten eine grofse sein braucht, und umgekehrt.

Nnn ist allerdings mit dem Fieberanfall ein Verschwinden der Parasiten meistens nicht verknüpft, und doch müssen wir annehmen, dafs ein grofser Teil derselben während der Hämolyse zugrunde geht, da sonst nach der Schizogonie stets eine ganz gewaltige Vermehrung der Parasiten erwartet werden müfste. Wo eine stärkere Vermehrung der Parasiten angetroffen wird, wie z. B. bei den beiden oben erwähnten Kochschen Fällen, ist dies nach meiner Ansicht in derselben Weise durch einen abnorm schwachen Organismus zu erklären, wie es eben im Anschlufs an die Besprechung des Schwarzwasserfiebers geschehen ist.

Ich nehme also auch beim einfachen Malariaanfall die Bildung eines zugleich antiparasitär und hämolytisch wirkenden Körpers innerhalb von Zellen an, dessen Anhäufung während weiterer Fieberanfälle allmählich zu einer immer mehr ausgesprochenen Immunität den Parasiten gegenüber führen mufs.

Unter Berücksichtigung dieser Anschauung erscheint mir deshalb der Malariaanfall von dem Schwarzwasseranfall nur graduell verschieden, mag dieser spontan oder auf eine Chiningabe hin eingetreten sein, sofern nur eine deutliche Verminderung der Parasitenzahl zu konstatieren ist; denn der mäfsigen Parasitenzerstörung und gleichzeitigen mäfsigen Hämolyse des ersteren entspricht hier die Kombination der gleichen nur weitergehenden Reaktionen. Es liegt daher für mich nahe, die Disposition für Schwarzwasser mit einer höheren Virulenz der Parasiten in Ver-

bindung zu bringen, wie es auch Stephens getan hat; mit diesem wesentlichen Punkte würden sich auch leicht die Hypothesen vom Einflufs des Klimas (Koch) und der Übertragung durch bestimmte Mückenarten (F. Plehn), sowie die Änderung der Konstitution der in Schwarzwasserbezirken lebenden Europäer (Stephens) in einen kausalen Zusammenhang bringen lassen.

Was die Hämolyse anbetrifft, so ist auch Panse auf Grund seiner Beobachtungen an 35 Schwarzwasserkranken über das Verhältnis vom Schwarzwasser zur Malariainfektion zum gleichen Resultat gelangt: »Sobald feststeht, dafs Erythrocytolyse mit konsekutiver Hämoglobinämie zum Wesen der Malariainfektion gehört, wäre demnach die Folgerung möglich, dafs Schwarzwasserfieber nichts anderes zu sein braucht, als ein auf Grund höherer Intensität der Infektion erreichter höherer Grad jener Erythrocytolyse. Dann würden wir dem Chinin und anderen Medikamenten, deren zweifellosen Einflufs keine Überlegung je mehr aufser acht lassen darf, nur noch die Fähigkeit zuschreiben dürfen, Steigerungen der »Malariahämocytolyse« zu unterstützen, zu begünstigen, nicht aber die Fähigkeit, eine Hämocytolyse bei Malaria überhaupt erst »hervorzurufen«, zu »veranlassen« oder »auszulösen«.«

Es erübrigt noch auf die Beobachtungen einzugehen, die sich mit der Diagnose der Disposition für Schwarzwasserfieber beschäftigen. Koch hat als Symptome dafür das Ansteigen der Temperatur in den nächsten Stunden nach einer Chiningabe auf 38° und darüber, auffallendes Dunklerwerden des Urins und eine am nächsten Morgen sich zeigende ikterische Verfärbung der Haut angegeben. Ruge konstatierte in einem Fall auf 0,3 Chinin subkutan eine bedeutende Vermehrung der polychromatischen Erythrozyten und einige Tage später auf dieselbe Dosis einen Schwarzwasseranfall; er hielt es deshalb für berechtigt darauf hinzuweisen, dafs vielleicht durch derartige Blutbefunde eine drohende Hämoglobinurie erkannt werden könnte. Da die Polychromasie ebenso wie der Kochsche Symptomenkomplex stets ein Ausdruck dafür ist, dafs nicht unbeträchtliche Mengen von roten Blutkörperchen zugrunde gegangen sein

müssen, da ferner eine Zählung der polychromatischen Erythrozyten nach meinen Erfahrungen am Blut mit Trypanosomen infizierter Tiere insofern auf Schwierigkeiten stöfst, als die Färbung nicht immer gleichmäfsig deutlich ausfällt, und bei einer gewissen Menge von Blutscheiben nicht sicher entschieden werden kann, ob sie zu den orthochromatischen oder zu den polychromatischen zu rechnen sind, so möchte ich eine Modifizierung des Rugeschen Vorschlags durch die einwandsfreiere Blutkörperchenzählung vor und nach der Chiningabe empfehlen. Vielleicht gelingt es so, in der Praxis einen ungefähren Grenzwert der Differenzen festzustellen, der die drohende Schwarzwassergefahr anzeigt und damit die weitere Verabreichung von Chinin, wenigstens in derselben Dosis, verbietet.

Es liegt nahe, nachdem sich in dem Verhalten der Parasiten zur Blutkörperchenzerstörung eine prinzipielle Übereinstimmung zwischen Trypanosomiasis und Malaria ergeben hat, den Vergleich auch auf die Piroplasmosen, die ja durch die häufig bei ihnen auftretende Hämoglobinurie charakterisiert sind, auszudehnen.

Auch bei den Piroplasmosen, z. B. der Hämoglobinurie der Rinder, verschwinden mit den Blutharnen meist ziemlich akut die Parasiten vollständig oder bis auf vereinzelte Exemplare; nur bedarf es dazu einer weit reichlicheren Ansammlung von Parasiten als bei der menschlichen Malaria. Der Verlauf der Piroplasmose steht daher bis auf die bei Trypanosomeninfektionen bisher nicht beobachtete Hämoglobinurie diesen näher als dem Schwarzwasser Malariakranker. Häufig tritt noch nach dem Verschwinden der Piroplasmen dadurch, dafs die Hämolyse noch weiter fortschreitet, der Tod ein. Diese hier spontane Erscheinung erinnert lebhaft an Beobachtungen, die ich bisweilen an cadéras- oder naganakranken Mäusen, die mit Trypanrot behandelt waren, machen konnte; die Tiere gingen noch nach der vollkommenen Heilung von der Infektion an der weiter zunehmenden Anämie ein. Derartige Befunde beweisen aber meines Erachtens, dafs auch bei den Piroplasmosen die Erythrozytolyse im wesentlichen nicht durch eine unmittelbare Einwirkung der Parasiten auf die Blutkörperchen hervorgerufen wird, sondern dafs dieser Prozefs

hier in der gleichen Weise einen indirekten Verlauf nimmt und ebenso mit der Bildung von mikrobiziden Stoffen eng verknüpft ist wie bei der Trypanosomiasis und der menschlichen Malaria bzw. dem Schwarzwasserfieber bei menschlicher Malaria.

## Literatur.


Daniels, Royal Society. Reports to the Malaria Committee, 1901, V. Series.

v. Dungern, Spezifisches Immunserum gegen Epithel. Münchner med. Wochenschr., 1899, Bd. 46.

Kolle und Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen.

Kleine, Über Schwarzwasserfieber. Zeitschrift f. Hygiene und Infektionskrankheiten, Bd. 38, 1901.

Koch, Über Schwarzwasserfieber (Hämoglobinurie). Zeitschrift f. Hygiene und Infektionskrankheiten, Bd. 30, 1899.

Kossel, Schütz, Weber und Miefsner, Über die Hämoglobinurie dee Rindes in Deutschland. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. 20, 1903.

Krönig, Phenacetinvergiftung mit tödlichem Ausgang. Berliner klin. Wochenschr, 1895.

Kunkel, Handbuch der Toxikologie. Jena, 1901.

Moffat, Blackwater fever. Brit. med. Journ., 1902, Vol. I, Nr. 2143.

Nifsle, Beobachtungen am Blut mit Trypomosomen geimpfter Tiere. Archiv f. Hygiene, Bd. 53, 1905.

Otto, Ein in unseren Breiten erworbener Fall von Schwarzwasserfieber bei Quartana. Deutsche med. Wochenschr., 1902.

Panse, Schwarzwaseerfieber. Zeitschrift f. Hygiene und Infektionskrankheiten, Bd. 42, 1903.

Plehn, A., Ätiologie und Pathogenese des Schwarzwasserfiehers. Virchows Archiv, Bd. 174, 1903 und Deutsche med Wochenschr., 1903.

Plehn, F., Über die praktischen Ergebnisse der neueren Malariaforschung und einige weitere Aufgaben derselben. Deutsche med. Wochenschr, 1901.

Ruge, Einführung in das Studium der Malariakrankheiten, 1901.

Ruge, Ein Beitrag zur Ätiologie des Schwarzwasserfiehers. Deutsche med. Wochenschr., 1902.

Schlayer, Beitrag zur Kasuistik der Malaria und des Schwarzwasserfiehers. Deutsche med. Wochenschr., 1902.

Stephene, Blackwater fever. Thompson Yates and Johnston laboratories report. Vol. V, 1903, Nr. 1. (Ref. Zentralblatt f. Bakteriologie, 1904).

# Über den Einfluſs des Hungers auf die Bakteriendurchlässigkeit des Intestinaltraktus.

Von

Prof. **M. Ficker.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. M. Rubner.)

Wenn man berücksichtigt, mit wieviel Unbekannten wir bei experimentellen Untersuchungen über die Entstehungsweise intestinaler Infektionen zu rechnen haben, so kann es nicht wundernehmen, daſs unsere Kenntnisse über diese Frage heute noch nicht weiter gediehen sind. Solange z. B. die Rolle der Darmsäfte oder der im Darme heimischen Mikroorganismen gegenüber infektiösen Keimen nicht eingehender untersucht ist oder solange wir über die Virulenzabschwächuug und -Verstärkung, wie sie unter natürlichen Verhältnissen erfolgt, nicht besser unterrichtet sind oder solange wir den Begriff der Disposition, der so Verschiedenartiges zusammenfafst und so oft herhalten muſs, um Unbekanntes zu verbergen, mit spezieller Rücksichtnahme auf die Infektion vom Darme aus nicht zergliedern und schärfer präzisieren, wird es schwer fallen, Gesetze von allgemeinerer Gültigkeit aufzustellen.

Um eine Grundlage für Untersuchungen in der in Rede stehenden Richtung zu gewinneu, habe ich, wie früher mitgeteilt (1), bei Innehaltung einer bestimmten Methodik das Verhalten des normalen Darms von Tieren gegenüber einverleibten Saprophyten

und den normalen Darmkeimen geprüft. Da mir so bei einheitlicher Versuchsanordnung die Verhältnisse bei bestimmten Tiergattungen bekannt waren, legte ich mir, um einen Schritt weiter zu kommen, die Frage vor, ob an diesem normalen Verhalten etwas geändert wird, wenn solche Einflüsse, wie sie bei der Entwicklung von Darminfektionen in Betracht zu kommen scheinen, auf die Versuchstiere einwirken würden: nach Variation dieser Bedingungen könnte sich bei Prüfung des Blutes und der Organe eines Versuchstieres auf verfütterte, leicht wieder erkennbare Saprophyten oder auf Darmbakterien vielleicht beobachten lassen, ob lediglich den geprüften Faktoren eine Bedeutung für den Übertritt von Bakterien aus dem Darm beizumessen sei. Bei solchen Versuchen würde der Vorteil gegeben sein, daſs aus der Gleichung zunächst die komplizierende Frage der Infektion bzw. Virulenz ausgeschaltet ist.

Es erschien in dieser Beziehung der Einfluſs des Hungers der Untersuchung wert.

## I. Versuche.

Die Versuche erstreckten sich auf Kaninchen, Hunde, Katzen, Mäuse und Ratten. Nur den Hunden wurde Wasser verabreicht, die übrigen Tiere wurden unter kompletter Abstinenz gehalten. Für Reinhaltung der Käfige wurde Sorge getragen, erfahrungsgemäſs wird z. B. bei Feuchtsitzen der Hunger sehr schlecht ertragen. — Die Versuchsanordnung war im übrigen dieselbe, wie sie in dieser Zeitschrift Bd. 52, S. 180 ff. geschildert wurde.

Bei Versuch 1—4 wurden nur diejenigen Kulturröhrchen näher untersucht, bei denen ein Kulturwachstum an der Oberfläche in roter Farbe erfolgte. Das Aufbewahren der Röhrchen geschah bei 27°. Diejenigen Gläser, bei denen nach 14 Tagen anscheinend kein Wachstum oder eine farblose Vegetation auftrat, wurden vernachlässigt. Bei den übrigen Versuchen wurden alle getrübten Röhrchen und Kolben untersucht, die gefundene Stäbchenart, sofern sie nicht der Heubazillengruppe angehörte, wurde weiter identifiziert. Die klar gebliebenen Kulturgläser oder diejenigen, die Kokken, Sarcinen oder Hefen enthielten, blieben auſser weiterer Beachtung. Versuche an Hunden, bei denen Askariden gefunden wurden, sind nicht mitaufgeführt.

1. Kaninchen gelb, 2280 g, hungert 6 Tage. Darnach Verfütterung von Rotem Kieler (Agarbelag einer Schale von 16 cm Durchmesser, 20 Stunden bei 27° gewachsen) mit Rüben. Nach $3^3/_4$ Stunden stranguliert. Roter Kieler

vorhanden in 2 Leberröhrchen, 1 Blutröhrchen, im Dünndarm bis zum Cöcum reichlich, im Dickdarm sehr vereinzelt.

2. Kaninchen grau, 2230 g, hungert 4 Tage. Darnach Verfütterung von Rotem Kieler (Agarbelag einer Schale von 16 cm Durchmesser, 16 Stunden 27°) mit Kohlrabi. Nach 4 Stunden strangulliert. Roter Kieler nachweisbar in 1 Leber, 1 Milz- und 1 Blutröhrchen, ebenso in der ganzen Länge des Darmkanals.

3. Kaninchen grau, 1960 g, hungert 3 Tage, erhält vom Roten Kieler 1 Agarplattenbelag (16 cm Durchmesser, 16 Stunden 27°) mit Kohlrabi. Nach $4^1/_2$ Stunden stranguliert. Roter Kieler nachweisbar in 1 Leber-, 1 Milz- und 1 Mesenterialdrüsenröhrchen, ebenso in der ganzen Länge des Darmkanals.

4. Kaninchen grau, 1980 g, hungert 2 Tage, erhält 1 Agarplattenbelag Roten Kieler zwischen Kohlrabi wie Tier 3. Nach $4^1/_2$ Stunden strangulliert. Roter Kieler im ganzen Darmtraktus nachweisbar, sonst nirgends.

5. Kaninchen weiſs, 2120 g, hungert 7 Tage, erhält mit Runkelrüben 1 Platte Roten Kieler (9 cm Durchmesser, 1 Tag, 27°). Nach 4 Stunden stranguliert. I. Kulturkolben mit 250 ccm Bouillon. a) Leber: von 4 Kolben enthält 1 Roten Kieler, anſserdem Proteus, b) Niere: 1 Kolben, enthält Roten Kieler, c) Herzblut: 2 Kolben steril, 1 enthält Roten Kieler. II. Kulturröhrchen. a) Leber: von ca. 60 Röhrchen enthalten 12 Roten Kieler, 1 fluorescens liquefaciens, 15 Bact. coli, 6 Proteus, b) von 12 Nierenröhrchen enthalten 2 Roten Kieler, c) Mesenterialdrüsen: von 11 Röhrchen enthalten 3 Bact. coli, 1 Roten Kieler, d) Blut: 14 steril.

6. Kaninchen grau, 2510 g, hungert 6 Tage, erhält 1 Agarplatte (8,9 cm Durchmesser, 1 Tag, 27°) Roten Kieler mit Rüben. Nach $3^3/_4$ Stunden strangulliert. I. Kolben. a) Leber: 4 Kolben beschickt, davon enthalten 2 Bact. coli, 1 Roten Kieler, 1 steril, b) Herzblut: 1 Kolben steril. II. Röhrchen. a) Leber: von 43 Röhrchen enthält 1 Bact. coli, b) Blut: von 29 Röhrchen enthält 1 Roten Kieler, c) Nieren: alle 11 Röhrchen steril, d) Milz: von 9 Röhrchen enthält 1 Roten Kieler, e) Mesenterialdrüsen: von 14 Röhrchen enthalten 2 Bact. coli.

7. Kaninchen gelb, 2640 g, hungert 6 Tage. Stranguliert ohne vorherige Fütterung. I. Kolben. Leber: von 3 Kolben verbleiben 2 steril, 1 enthält B. coli. II. Röhrchen. a) Leber: von 25 Röhrchen enthalten 3 B. coli, b) Blut: 26 Röhrchen geimpft, sämtlich steril, c) Mesenterialdrüsen: 14 Röhrchen geimpft, 1 enthält B. coli, d) Milz: alle 9 Röhrchen steril, e) Nieren: alle 15 Röhrchen steril.

8. Kaninchen weiſs, 2890 g, hungert 8 Tage, darnach stranguliert ohne vorherige Fütterung. I. Kolben. Leber: 3 Kolben. Davon enthält Nr. 1 Proteus, Nr. 2 B. coli und Proteus, Nr. 3 steril. II. Röhrchen. a) Leber: von 48 Röhrchen enthalten 5 B. coli, b) Blut: 16 Röhrchen, davon enthalten 3 Proteus, c) Mesenterialdrüsen: von 7 Röhrchen enthält 1 B. coli, d) Milz: alle 8 Röhrchen steril, e) Nieren: alle 13 Röhrchen steril.

9. Hund, Fox, 8,5 kg, erhält nach 8 Tage langem Hungern 0,5 kg gewiegtes Pferdefleisch, vermischt mit 3 Agarplatten (9 cm Durchmesser, 1 Tag 27°) Roten Kieler. Nach 3 Stunden mit Nikotin vergiftet. Starke Schaum-

bildung am Maul und wiederholte tiefe Inspirationen vor dem exitus. Resultat: Alle Laugenröhrchen enthalten Roten Kieler, ebenso der Darm bis zum Cöcum. In den Organen, im Blut und in Mesenterialdrüsen: 0 Roter Kieler.

10. Hund gelb, »Fuchs«, 13,5 kg, hungert 12 Tage. Gewichtsabnahme 1,73 kg. Erhält mit 0,5 kg Hackfleisch 3 Agarplatten Roten Kieler (9 cm Durchmesser, 1 Tag 27°). Nach 3½ Stunden enthlutet von rechter Karotis aus. Resultat: a) Leber: beschickt 52 Röhrchen, davon enthält 1 B. coli, 1 Proteus, b) Blut: 21 Röhrchen, alle steril, c) Milz: 11 Röhrchen, alle steril, d) Nieren: 19 Röhrchen, alle steril, e) Mesenterialdrüsen: 14, davon in 2 B. coli. — In keinem Röhrchen Roter Kieler. Im Dünndarm reichliche Mengen, im Cöcum und weiter nach abwärts etwa 4—5 % Kolonien von Rotem Kieler.

11. Teckel, 6,1 kg, braun, hungert 13 Tage. Erhält 0,5 kg Pferdefleisch mit 2 Platten (9 cm Durchmesser, 1 Tag 27°) Roten Kieler. Nach 4 Stunden von rechter Karotis aus enthlutet. Resultat: a) Leber: beschickt 76 Röhrchen, davon enthalten 3 B. coli, 4 Proteus, b) Milz: 6 Röhrchen, alle steril, c) Nieren: 12 Röhrchen, davon 1 B.coli, d) Mesenterialdrüsen: 11 Röhrchen, davon 2 B. coli, e) Blut: 23 Röhrchen, alle steril. — In keinem Röhrchen Roter Kieler nachweisbar. Der Dünndarm enthält massenhaft Roten Kieler. Vom Cöcum nach abwärts nur noch 5—10 % neben den üblichen Darmbakterien.

12. Terrier, 9,2 kg, hungert 16 Tage. Erhält mit 0,5 kg Pferdefleisch 3 Platten Roten Kieler (Agar, 9 cm Durchmesser, 1 Tag 27°). Nach 4¾ Stunden entblutet. Resultat: a) Leber: beschickt 70 Röhrchen, davon enthalten Roten Kieler 3 Röhrchen, B. coli 5, Proteus 1, b) Milz: 5 Röhrchen, sämtlich steril, c) Nieren: 8 Röhrchen, davon 1 Proteus, d) Mesenterialdrüsen: 10, davon 1 Roten Kieler, 2 B. coli, 1 Proteus, e) Blut: 34 Röhrchen, davon 1 Roten Kieler. Im Dünndarm reichlich Roter Kieler, im Cöcum und weiter abwärts ca. 5 % Kolonien von Rotem Kieler unter Darmbakterien.

13. Spitz, 7,3 kg, hungert 17 Tage. Erhält mit 0,5 kg Pferdefleisch 3 Platten Roten Kieler wie 12. Nach 4⅓ Stunden entblutet. Resultat: a) Leber: beschickt ca. 60 Röhrchen, davon enthalten 4 Roten Kieler, 2 B. coli, b) Milz: 6 Röhrchen, alle steril, c) Nieren: 7 Röhrchen, alle steril, d) Mesenterialdrüsen: 13 Röhrchen, davon 2 Roten Kieler, 1 B. coli, 1 Proteus, e) Blut: 37 Röhrchen, sämtlich steril. In der ganzen Länge des Darmkanals Roter Kieler, vom Cöcum abwärts ca. 5—10 % neben Darmbakterien.

14. Katze, grau-weifs, 2300 g, hungert 3½ Tage. Erhält darnach mit ½ Pfund Hackfleisch 2 Petrischalen (8,9 cm Durchmesser, 18 Stunden 27°) Roten Kieler. Nach 3 Stunden enthlutet von rechter Karotis aus. Resultat: Roter Kieler in 2 Röhrchen von Leber, ebenfalls in 2 Röhrchen von Mesenterialdrüsen. B. coli in einem Röhrchen von Mesenterialdrüsen.

15. Katze, schwarz, 2400 g, hungert 5 Tage. Ohne vorherige Fütterung von rechter Karotis aus enthlutet. Resultat: a) Leber: geimpft 65 Röhrchen, davon weisen 3 B. coli, 1 Proteus auf, b) Mesenterialdrüsen: 12 Röhrchen, davon in 1 B. coli, c) Blut: 39 Röhrchen, alle steril.

16. Katze, grau, 2160 g, hungert 6 1/2 Tag. Ohne vorherige Fütterung entblutet. Resultat: a) Leber: 61 Röhrchen, davon in 8 B. coli, in 2 B. coli + Protens, b) Mesenterialdrüsen: 6 Röhrchen, davon in 3 B. coli, in 1 B. coli + Proteus, c) Milz: 5 Röhrchen, davon in 1 B. coli, d) Nieren: 5 Röhrchen, alle steril, e) Blut: 34 Röhrchen, davon in 5 B. coli, in 2 B. coli + Protens.

17. Maus 1, hungert 3 Tage, darnach stranguliert. B. coli ist enthalten in 21 Röhrchen von Leber, in 4 von Milz, in 1 von Herzblut. Steril sind 19 Röhrchen von Leber, alle 6 von Nieren, 1 von Milz.

18. Maus 2, hungert 30 Stunden. 3 Röhrchen von Leber enthalten B. coli, 1 Protens. Die übrigen 13 Röhrchen von Leber, 7 von Blut, 5 von Niere, 3 von Milz, 4 von Lunge sind steril.

19. Maus 3, hungert 16 Stunden, darnach strangnliert. Beschickt werden 16 Röhrchen mit Leber, 9 mit Nieren, 3 mit Milz, 3 mit Blut, 4 mit Lunge. Sämtliche Röhrchen steril.

20. Maus 4, hungert 30 Stunden. Darnach Verfütterung von 5 Ösen Roten Kielers (20 Stunden alte Agarkultur, 27°), vermischt mit Semmel. Nach 3 3/4 Stunden strangulliert. Roter Kieler in 2 Leber- und 1 Blutröhrchen. B. coli in 3 Leberröhrchen. Steril sind 8 Röhrchen von Leber, 4 von Blut, 4 von Nieren, 2 von Milz, 3 von Lunge.

21. Ratte 1, weifs, 240 g, hungert 6 1/2 Tage, darnach stranguliert. B. coli enthalten 14 Röhrchen von Leber, 5 von Nieren, 4 von Mesenterialdrüsen. Steril sind 7 von Blut, 15 von Leber, 3 von Mesenterialdrüsen, 2 von Lunge, 4 von Bronchialdrüsen, 8 von Nieren, 5 von Milz.

22. Ratte 2, weifs, 265 g, hungert 5 Tage, darnach strangnliert. B. coli enthalten 2 Röhrchen von Leber, 1 von Mesenterialdrüsen, 1 von Blut. Steril sind 26 Röhrchen von Leber, 6 von Nieren, 4 von Milz, 4 von Mesenterialdrüsen, 8 von Blut, 4 von Lunge.

23. Ratte 3, weifs, 255 g, hungert 2 Tage, darnach stranguliert. Geimpft werden 24 Röhrchen von Leber, 9 von Blut, 8 von Nieren, 5 von Milz, 4 von Mesenterialdrüsen, 5 von Lunge. In keinem Röhrchen sind Darmkeime nachzuweisen

## II.

Der Einfluſs des Hungers trat mir zum ersten Male deutlich zutage, als ich in früheren Versuchen jungen Kaninchen nicht sofort nach der Herausnahme aus dem Nest die Keimaufschwemmung verabreichte, sondern die Tiere erst einige Zeit von der Mutter absetzte, um nach dieser Hungerperiode eine vollständigere Aufnahme der im Saugfläschchen dargebotenen Kulturdosis zu erreichen. Bei der kulturellen Untersuchung des Blutes und der Organe der Hungertiere war stets in einer gröfseren Anzahl von Röhrchen der verfütterte Keim nachzuweisen wie bei den Kontrolltieren. Indessen sind die Resultate dieser Versuche, die ja

dieser Fragestellung gar nicht dienen sollten, vielleicht im Zusammenhange mit den anderen, hier mitzuteilenden verwertbar, für eine exakte Klarlegung sind sie nicht ausreichend; es hätte dazu einer quantitativ genauen Zerlegung des Organismus und einer Verteilung auf entsprechende Nährbodenmengen zum Gewinneu vergleichbarer Ergebnisse bedurft. Bei der an und für sich so hohen Empfindlichkeit des Magendarmtraktus jugendlicher Kaninchen erschien es mir vielmehr richtiger, erwachsene Kaninchen hungern zu lassen, um sie sodann mit Rotem Kieler zu füttern und darnach Blut und Organe kulturell zu untersuchen.

Wie aus den Versuchen hervorgeht, konnten bei sämtlichen erwachsenen Kaninchen, die 3—7 Tage gehungert hatten und dann mit dem Futter Roten Kieler erhielten, die verfütterten Keime in Organen oder im Blut nachgewiesen werden. Da bei nicht hungernden Kaninchen unter Innehaltuug der im übrigen gleichen Versuchsanordnung nur in 35% der Fälle ein Übertritt verfütterter Mikroorgauismen beobachtet worden war(1), so kommt hier schon zum Ausdruck, dafs die Schutzvorrichtungen gegenüber dem Eindringen von per os aufgenommenen Keimen bei Nahrungsentziehung in ihrer Funktion beeinträchtigt werden.

Bei diesen Fütterungsversuchen am hungernden Kaninchen fiel mir bald auf, dafs gegenüber den Befunden bei normalen Kaninchen bei weitem mehr von denjenigen Röhrchen, in denen nicht Roter Kieler angegangen war, fremde Keime enthielten; die nähere Untersuchung ergab, dafs es sich hierbei vor allem um Bact. coli, B. lactis aërogenes, Proteus und Bazillen aus der Subtilis-Gruppe handelte. Es erschien mir daher für weitere Versuche am Kaninchen nicht nur überflüssig, eine Keimverfütterung vorzunehmen, sondern auch rätlich, die Keimzufuhr wegzulassen und vielmehr die Organe des Hungertieres auf Darmkeime zu untersuchen. Gegen die Versuche mit Keimverfütterung kann ja der Einwand erhoben werden, dafs man damit, selbst wenn man Saprophyten wählt, doch auch die Stoffwechselprodukte dieser Mikroorganismen, die nicht indifferent sein könnten, einführt. Da man nun mit Hinblick auf die grofse

Oberfläche, auf welche sich die verfütterten und in den Säftekreislauf eindringenden Keime verteilen, kulturell einen Ausschlag nur erwarten darf, wenn man die Keimdosis nicht zu gering bemiſst, so besteht darin vielleicht die Gefahr, daſs die Einfuhr solchen Materials direkt Schleimhautalterationen veranlassen könnte. Man müſste freilich dann auch zugeben, daſs ähnliche Alterationen schon durch viele unserer Nahrungsmittel hervorgerufen werden müſsten, die massenhafte Bakterien und deren Stoffwechselprodukte enthalten, so Milch, Butter, Käse, Hackfleisch, Wurst usf., gar nicht zu reden von den Bakterienmassen, die das Tierfutter enthält.

Um alle Bedenken zu zerstreuen, habe ich in einer Anzahl von Versuchen die Verfütterung von Reinkulturen aufgegeben und eine kulturelle Untersuchung des hungernden Organismus auf Darmkeime vorgenommen.

Um Darmbakterien in den Organen nachzuweisen, ist die Kenntnis der Bakterienflora des Darmes und der Luft des Untersuchungsraumes nötig. Die konstanten Bewohner des Kaninchendarmes sind Bazillen aus der Koli-, Proteus- und Subtilis-Gruppe. Zur Koli-Gruppe rechne ich im folgenden auch den B. lactis aerogenes mit Verwandten. Die eingehenden Luftuntersuchungen, die ich nun schon längere Zeit hindurch und bei jedem Tierversuch aufs neue in dem Arbeitsraum durch Exponieren von Luftplatten (vgl. diese Zeitschr. Bd. 52, S. 182) vornehme, habe ich dahin erweitert, daſs ich mehrfach mitten im Versuch oder am Anfang und Ende an Bouillonröhrchen Kontrollimpfungen mit Rindsleber vornahm, die im Autoklaven bei 112° 1 Stunde sterilisiert und mit denselben Manipulationen wie die Organe des Versuchstiers verarbeitet wurde. Aus allen Luftuntersuchungen ergab sich, daſs Koli- und Proteus-ähnliche Keime nicht in der Luft, hingegen dann und wann Heubazillen oder ihm Nahestehende vorkamen. Es wurde daher das Augenmerk zunächst nur auf B. coli und Proteus gerichtet.

Es ergeben nun die Versuche, daſs in der Tat bei erwachsenen Kaninchen im Hungerzustande Darmbakterien in den Organen und im Blute zu finden sind.

Ein zutreffendes Bild von der Verteilung der Darmbakterien oder der verfütterten Keime auf die einzelnen Organe zu geben, bin ich zunächst nicht imstande, da es unmöglich erschien, den Gesamtorganismus kulturell abzusuchen. Es kommt eben, wie ich schon früher ausgeführt habe, für die Methodik der kulturellen Untersuchung von Blut und Organen ganz besonders darauf an, das Mengenverhältnis zwischen Organmasse bzw. Blut und Nährboden zu berücksichtigen. Fernerhin mufs für ausreichende Aufschliefsung des Organs gesorgt werden. Es ist ganz falsch zu glauben, dafs vereinzelte mit Organstücken in Bouillon übertragene Keime unter allen Umständen hier nachgewiesen werden können: so mufs das Kulturverfahreu auf den Nachweis der toten Bakterien verzichten; da wir ferner bei der Einsaat von irgendwelchem Kulturmaterial in ein anderes Nährsubstrat einen anfänglichen Rückgang der Keimzahl beobachten, so mufs angenommen werden, dafs, wenn vereinzelte, in abgeschwächter Verfassung befindliche Mikroorganismen aus dem Organ in Bouillon übertragen werden, solche überhaupt nicht zum Auskeimen zu kommen brauchen. Aber man mufs noch weiter gehen: Die in ein Bouillonröhrchen gegebenen Organstücke verfallen der Autolyse. Hierbei werden, wie ich in mehreren, bei anderer Gelegenheit zu publizierenden Versuchen festgestellt habe, nicht nur entwicklungshemmende Produkte frei, sondern wir haben es dabei auch mit deutlich bakteriziden Stoffen zu tun, deren Existenz schon H. Conradi(2) feststellte. Die Beobachtung dieser Tatsache bei meinen Versuchen ist insofern nicht ohne Wert, als hierbei die sonst bei autolytischen Versuchen üblichen antiseptischen Zusätze niemals zur Anwendung kamen. Auch nach meinen Erfahrungen ist von allen Organen die Leber zum Studium der autolytischen Vorgänge am geeignetsten und zwar Kaninchen- und Hundeleber. Bei 37° war oft nach 2 Tagen, bei 27° nach 3—5 Tagen in zahlreichen Leberröhrchen eine intensive Schaumbildung wahzunehmen; die vom Boden des Röhrchens aufsteigenden Bläschen rissen oft ganze Leberstücke mit in die Höhe. In manchen Fällen war die Gasbildung eine so starke, dafs Leberstücke bis zum Watte-

stopfen hinaufgeschleudert wurden. Hierbei war sowohl im direkten mikroskopischen Präparate als auch im Kulturversuch mit kleineren und gröfseren Quantitäten der gärenden Flüssigkeit oder der Organstückchen unter Variierung der Nährböden (Bouillon, Gelatine, Agar, Kartoffel) in vielen Fällen Keimfreiheit, sofern wir bei Anwendung der jetzt üblichen Methoden davon sprechen dürfen, zu konstatieren. In allen diesen Röhrchen war Schwefelwasserstoff nachweisbar. Die Stärke der in den sterilen Bouillonröhrchen auftretenden Gasentwicklung hing von der Menge der Einsaat von Lebermasse ab. Bei einzelnen Tieren ergaben sich merkwürdige Verschiedenheiten, die ich nicht aufzuklären vermochte. Die geringste Gasbildung trat bei Leber von Tieren ein, die längere Zeit hungerten. Es stimmt das mit den Beobachtungen E. Schlesingers[3]) überein, der durch Bestimmung der Zunahme des nicht koagulablen Stickstoffs die Wirkungsintensität des autolytischen Ferments bei atrophischen Kindern stark vermindert fand.

Wenn nun, wie erwiesen, bei den autolytischen Vorgängen antiseptische oder bakterizide Stoffe die mit den Organpartikeln übertragenen Keime in der Entwicklung ganz oder eine Zeitlang hindern, so ergibt sich daraus für unsere Untersuchungstechnik die Forderung, die Kulturgläser öfters und längere Zeit hindurch zu beobachten, sowie möglichst wenig von dem Organmaterial und dieses im aufgeschlossenen Zustande den Bouillonröhrchen zu übergeben. Wollte man unter Berücksichtigung dieser Momente den Gesamtorganismus von gröfseren Versuchstieren durch das kulturelle Verfahren auf Keime untersuchen, so würde man das nur unter weitgehender Arbeitsteilung tun können, um in kurzer Zeit die Impfungen zu vollziehen. Damit aber würde die Vergleichbarkeit der Resultate wieder in Frage gestellt. Ich habe mich daher darauf beschränkt, bei Kaninchen etwa den sechsten, bei Katzen und Hunden etwa den zehnten Teil der Organe auf Nährböden auszusäen. Rechnet man das alles zusammen, so mufs man die in den Versuchen erhaltenen positiven Resultate als ein Minimum ansehen, in Wirklichkeit sind die verfütterten

Keime bzw. die Darmbakterien in den Organen in gröfserer Zahl vorhanden gewesen.

Als ein noch geeigneteres Versuchstier wie das Kaninchen mufs für das Studium der den Übertritt von Darmkeimen begünstigenden Faktoren der Hund erscheinen: selbst nach Verfütterung grofser Quantitäten von saprophytischem Bakterienmaterial konnte in meinen früheren Versuchen der verfütterte Keim beim normalen Hund im Blut oder in den Organen niemals nachgewiesen werden. Gelingt es, beim Hunde Bedingungen zu schaffen, welche den im Darmlumen befindlichen Keimen ein Eindringen in Blut- und Lymphbahnen und in die Organe ermöglichen, so müfste bei der hohen sonstigen Widerstandsfähigkeit des Intestinaltraktus des Hundes einem solchen Moment in der Tat eine gewichtige Rolle bei der Entstehung von Darminfektionen zuzuerkennen sein.

In den Hungerversuchen zeigte auch der Hund wieder, wie ungleich besser als das Kaninchen er mit seinem Verdauungskanal gestellt ist. Während beim Kaninchen schon ein drei Tage langes Hungern genügte, um den verfütterten Keimen die Wege vom Darmlumen ins Körperinnere zu öffnen, mufste beim Hund die Hungerperiode auf 16 Tage ausgedehnt werden, dann erst waren die verfütterten Keime in Organen aufzufinden. Auffallend aber mufs es erscheinen, dafs nach der 12 und 13 Tage währenden Nahrungsentziehung statt der gesuchten verfütterten Keime beim Hund in den Organen Darmkeime beobachtet wurden. Vergleicht man mit diesen Befunden die Ergebnisse der Organuntersuchungen am normalen Hund, wie ich sie an der Hand derselben Methodik früher mitteilte (1., S. 186, 187), so ist der Einflufs des Hungers unverkennbar.

Fafst man den Widerspruch ins Auge, der darin zu liegen scheint, dafs bei Nahrungsentziehung obligate Darmbakterien eher überzutreten vermögen als selbst in grofsen Mengen verfütterte Keime, so könnte man in dieser Beobachtung einen Beweis dafür erblicken, dafs die Aufnahme nicht im Dünndarm

sondern im Dickdarm erfolge; denn die quantitative Prüfung des Darminhaltes in allen Partien ergab, daſs gegenüber dem Befund von reichlichen verfütterten Keimen im Dünndarm ihre Menge im Dickdarm im Verhältnis zu den hier vorhandenen einheimischen Darmbakterien eine spärliche, im Höchstfalle ca. 10% war. Es ist hier aber auf eine Beobachtung aufmerksam zu machen, die für die weitere Klärung der Frage vielleicht nicht unwichtig erscheint: während bei normalen Kaninchen und Hunden der Dünndarm auch in seinen unteren Partien relativ arm an Darmbakterien zu finden ist, sind hier bei den Hungertieren bei weitem gröſsere Keimmengen, insbesondere auch mehr B. coli vorhanden. Während man sonst die Anwesenheit von Keimen im Düundarm mit dem Vorhandensein von Nahrungsbestandteilen in Zusammenhang bringt, kommen bei den vorliegenden Versuchen Ingesta nicht in Frage, vielmehr scheint im Hungerzustand ein Ascendieren von Dickdarmbakterien nach dem Dünndarm regelmäſsig einzutreten. Es könnte demnach als Ort des Übertritts auch der Dünndarm in Frage kommen. Da drängt sich aber die Frage auf, warum denn die verfütterten Keime, die sich hier doch auch reichlich fanden, zunächst nicht auch zur Aufnahme kamen. Man könnte sich dann vorstellen, daſs die bakterizide Fähigkeit der Darmsäfte oder der Schleimhautzellen den einheimischen Darmbakterienarten gegenüber bei Nahrungsentziehung deshalb eher versagt, weil diese Mikroorganismen doch durch die ständige Berührung mit diesen Schutzkräften des Intestinaltraktus eine gewisse Widerstandsfähigkeit erworben haben, während den verfütterten Saprophyten gegenüber die Abwehrvorrichtungen zunächst noch ausreichen. — Da nun aufserdem bei diesen letzten Versuchen (Vers. 12, 13) das Verhältnis der verfütterten zu den einheimischen Darmbakterien im Dickdarm nicht ein anderes war wie bei den voraufgehenden, in denen ein Übertritt des verabreichten Roten Kielers nicht nachgewiesen werden konnte, so ist auch hierin nicht ein Beweis dafür zu erblicken, daſs die Aufnahme nun unter allen Umständen im Dickdarm vor sich gegangen sein muſs.

Man könnte auch zur Erklärung der Tatsache, dafs beim Hungerhund in den Organen viel frühzeitiger die Darmbewohner anzutreffen sind als verfütterte Keime, auf die Vermutung kommen, dafs es sich bei dem ersteren Befunde um latente Keime handelt, die bei früherer Gelegenheit übergetreteu sind und nun in dem hungernden Organismus an Vitalität gewinnen, so dafs jetzt ihr Nachweis in der Kultur gelingt, der sonst wegen ihres in der Latenz geschwächten Zustandes oder wegen der im Kulturglas vor sich gehenden Organautolyse auf Schwierigkeiten stiefs. Nach meinen früheren Untersuchungen am normalen Huud, bei denen schon eine weitgehende Aufschliefsung der Organe erfolgte, ist mir eine so umfangreiche Latenz, wie sie hier vorgelegen haben müfste, sehr unwahrscheinlich.

Schliefslich möchte ich uoch eine Beobachtung mitteilen, die ich an allen Hungerhunden machen konnte. Das ist die starke Schwellung der Mesenterialdrüsen. Es ist mir nicht bekannt, dafs man bei der Sektion von Hungertieren hierauf aufmerksam geworden ist. Da mir aber durch die Untersuchnngen an normalen Hunden Gelegenheit zu vergleichenden Beobachtungen gegeben war, so möchte ich diesen Befund hervorheben, der ja mit den sonstigen Resultaten in Zusammenhang zu bringen ist.

Die Versuche an den übrigen Tieren bedürfen keiner Erläuterung. Es ergibt sich aus allen Untersuchungen, dafs bei Kaninchen, Hunden, Katzen, Mäusen und Ratten durch Inanition sowohl für verfütterte saprophytische Keime als auch für im Darm heimische Bakterien Bedingungen für das Eindringen in die Lymph- und Blutbahn sowie in die Organe geschaffen werden.

Es ist unschwer, mit Hilfe dieser Tatsache die Entstehung einer Reihe von infektiösen Krankheitsprozessen zu beleuchten und klarer zu erkennen, als das bisher der Fall war. Da diese Fragen indessen weiterer experimenteller Bearbeitung zugängig sind, so begnüge ich mich vorläufig, hier noch Erörterungeu über den Einfluls des Hungers auf die Einverleibung von Mikro-

organismen anzuschlieſsen, die das Hauptsächliche des Bekannten berühren und einige eigene weitere Beobachtungen verwerten.

Schon Pasteur brachte experimentell die Nahrungsentziehung in Beziehung zur Infektion: er lieſs Hühner nach der Impfung mit Milzbrand 2—8 Tage hungern und stellte fest, daſs die Hühner nicht an Milzbrand erkrankten. Hiermit widerlegte er zugleich die Ansicht Colins, die dahin ging, daſs die von Pasteur durch Abkühlung milzbrandempfänglich gemachten Hühner nicht infolge der Abkühlung, sondern u. a. infolge der Inanition ihre Milzbrandimmunität verloren hätten. In gröſseren Versuchsreihen prüften Canalis und Morpurgo[5]) den Einfluſs des Hungers auf die Milzbrandinfektion. Sie gingen von den Untersuchungen von Delafond und Bourguignon aus, die die Empfänglichkeit der schlechtgenährten Schafe für Krätze gegenüber der Unempfänglichkeit wohlgenährter Tiere erwiesen hatten. Canalis und Morpurgo wählten als Versuchstiere die gegen Milzbrand relativ resistenten Tauben, Hühner und Ratten. Sie fanden, daſs Tauben konstant der Milzbrandinfektion erliegen, wenn man sie gleichzeitig mit der Inokulation in den Hungerzustand versetzt; Tauben, welche vor der Impfung sechs Tage lang gehungert hatten, widerstanden der Infektion, wenn sie unmittelbar nach der Impfung wieder gefüttert wurden. Dauerte die voraufgehende Hungerperiode länger als sechs Tage, so gingen sie in der Regel trotz der Fütterung zugrunde. — Bei der Mehrzahl der Hühner gelang es, die Infektion hervorzurufen, wenn der Impfung eine Hungerperiode von 3—7 Tagen vorausging. Lieſs man die Hühner erst nach der Impfung hungern, so behielten sie ihre Immunität. Weiſse Ratten konnten durch Hunger nicht empfänglich für Milzbrand gemacht werden. Canalis und Morpurgo weisen noch nach, daſs bei hungernden Tauben der Verlust der Milzbrandimmunität nicht auf die Temperaturerniedrigung, welche den Hunger begleitet, bezogen werden kann, denn die Infektion blieb aus, wenn bei geimpften nichthungernden Tieren eine analoge Temperaturverminderung hervorgerufen wurde. Die Beweiskraft dieser Versuche von Canalis und Morpurgo zweifelt Baumgarten an, da bei Tauben an und für sich die

Empfänglichkeit für Milzbrand eine sehr ungleiche ist, ein Einwand, den man auch gegen die Versuche von Bakunin und Boccardi[6] machen mufs. Doch läfst sich wohl bei den grofsen Versuchsreihen, wie wir sie bei Canalis und Morpurgo finden, ein Einflufs des Hungers nicht leugnen. Wenn die infektionbegünstigende Rolle des Hungers im übrigen nicht eindeutig zum Ausdruck kam, so liegt das wohl in der Wahl des infizierenden Keims nnd in der subkutanen Anwendungsweise, bei der ja doch die Verhältnisse ganz anders liegen wie bei der unter natürlichen Bedingungen erfolgenden Tierinfektion. Zudem ist für den Tiermilzbrand es nicht erwiesen, dafs gerade der Hunger ein Hilfsmoment für die Infektion bildet, es gibt sogar Stimmen von Praktikern, die gerade die besternährten Tiere als am meisten disponiert für Milzbrand halten [John Gerrard[7], Oemler[8]]. — Andere systematische Infektionsversuche als die genannten sind am hungernden Organismus nicht ausgeführt, wohl aber hat man gelegentlich Tiere fasten lassen, um bei Verfütterung infektiösen Materials eine raschere und reichlichere Aufnahme zu erreichen, so liefs Harris[9] Mäuse 12—15 Stunden lang fasten, um sie dann mit Milzbrandsporen zu füttern. Der Einflufs des Fastens kam aber — offenbar der kurzen Frist wegen — nicht zum Ausdruck, von 26 Mäusen starb nur eine an Milzbrand. —

Einige Arbeiten befassen sich mit der Frage, ob auch der als sicher angenommene, die Infektion begünstigende Einflufs des Hungers ebenso wie die durch andere Momente verminderte natürliche Immunität etwa in der Abnahme der bakteriziden Fähigkeit des Blutes der Tiere seine Erklärung finde. So hatten schon Bakunin und Boccardi bei hungernden Tauben eine Verminderung der bakteriziden Serumwirkung gegenüber Milzbrandbazillen gefunden. E. S. London[10] beobachtete, dafs unter 13 Tauben, die er gänzlich oder teilweise fasten liefs, nur eine ein Serum lieferte, das noch bakterizides Vermögen gegen Milzbrandbazillen besafs, bei den übrigen war das Vermögen ganz oder teilweise zu Verlust gegangen. Zu anderen Ergebnissen kam Rosatzin[11] bei Kaninchen, er fand, dafs das

Serum dieser Tiere, wenn sie hungerten, nicht an Wirksamkeit gegen Milzbrand- und Typhusbazillen sowie Choleravibrionen einbüfste. Für Typhusbazillen hatten Meltzer und Norris[12] beim Hund dasselbe konstatiert. Diese differenten Beobachtungen erklären sich vielleicht dadurch, daſs man früher auf die bei der Einsaat in Serum eintretende Agglutination oder auf das erfolgte Fadenwachstum keine Rücksicht genommen hat, so daſs das Plattenverfahren dann unsicheren Aufschluſs geben muſste. Wertvoller als diese Reagenzglasversuche dürften die am Kaninchen angestellten Untersuchungen von Ferranini[13] sein, der normale und hungernde Tiere mit B. coli impfte und nachweisen konnte, daſs der verimpfte Keim aus dem Blut des normalen Tieres bald verschwindet, hingegen im Blute der Hungertiere 14 Tage lang persistierte. Was die Bakteriengiftempfindlichkeit fastender Tiere anlangt, so konnten Teissier und Guinard[14] durch Fasten Hunde gegeu die Toxine des Diphtherie- und Pneumoniebazillus sogar widerstandsfähiger machen.

Aus der jüngsten Zeit sind schlieſslich noch die Versuche P. Th. Müllers[15] zu erwähnen, der hungernde Tauben mit Bact. typhi, Pyocyaneus, B. dysenteriae, Proteus und V. Metschnikoff behandelte, um dann den Agglutinationswert des Serums zu vergleichen mit dem von nicht hungernden und in gleicher Weise immunisatorisch vorbehandelten Tieren derselben Art. Bei den mit B. typhi und Pyocyaneus behandelten Hungertauben traten mehr, bei den gegeu Dysenterie, Proteus und V. Metschnikoff immunisierten Hungertauben traten weniger Agglutinine als bei den Kontrolltieren auf. Eine ebenfalls ungleiche Wirkung des Einflusses des Hungers auf den Komplementgehalt des Blutes geht auch aus den Untersuchungen von Bendivegna und Carini[16] hervor, die hämolytische Komplemente bald vermehrt, bald vermindert fanden.

Meine eigenen Versuche sollten zunächst die Frage beantworten, ob im Serum hungernder Tiere eine Ab- oder Zunahme der natürlicherweise gegenüber einer Reihe von Keimarten vorhandenen Agglutinine erfolge; oh ferner ein hungerndes Tier Agglutinine gegen die im Darm einheimischen Bakterien bildet;

ob schliefslich beim Hunger durch Verfütterung solcher Keime, die, wie ich beobachtet hatte, vom Darm aus in Organe eindringen, eine spezifische Agglutininbildung eingeleitet wird.

Versuchsanordnung: Erwachsenen Kaninchen wird vor der Hungerperiode Blut zur Bestimmung des Agglutiningehaltes entnommen. Darnach hungern die Tiere die angegebene Zeit und werden sodann 1 Woche lang gefüttert, nun zweite Blutentnahme, bei Kaninchen 1 und 2 abermaliges Hungern, dann 1 Woche lang Fütterung, zweite Blutentnahme. Beim erst- und zweitmaligen Füttern nach der Hungerperiode wurden dem Futter je eine Platte (Agar, Durchmesser 16 cm, 1 Tag 27°) Roten Kielers beigemengt.

Die Agglutination wurde makroskopisch geprüft.

**I. Hungerperiode 3 Tage. II. Hungerperiode 4 Tage.**

| | 1:2 | 1:4 | 1:8 | 1:16 | 1:32 | 1:64 | 1:128 | 1:256 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. Kaninchen, schwarz. | | | | | | | | |
| a. Roter Kieler | | | | | | | | |
| vor Hungern . . . . . | — | — | — | — | — | — | — | — |
| nach I. Hungerperiode . | — | — | — | — | — | — | — | — |
| nach II. » . . | — | — | — | — | — | — | — | — |
| b. B. coli vom gleichen Kaninchen isoliert | | | | | | | | |
| vor Hungern . . . . . | + | + | + | — | — | — | — | — |
| nach I. Hungerperiode . | + | + | + | + | — | — | — | — |
| nach II. » . . | + | + | + | + | + | + | — | — |
| c. Typhus »Dr.« | | | | | | | | |
| vor Hungern . . . . . | + | + | — | — | — | — | — | — |
| nach I. Hungerperiode . | + | + | — | — | — | — | — | — |
| nach II. » . . | + | + | — | — | — | — | — | — |
| d. Cholera »S« | | | | | | | | |
| vor Hungern . . . . . | + | + | + | — | — | — | — | — |
| nach I. Hungerperiode . | + | + | — | — | — | — | — | — |
| nach II. » . . | + | + | — | — | — | — | — | — |
| 2. Kaninchen, gelb. | | | | | | | | |
| a. Roter Kieler | | | | | | | | |
| vor Hungern . . . . . | + | — | — | — | — | — | — | — |
| nach » . . . . . | + | — | — | — | — | — | — | — |
| b. Koli desselben Tieres | | | | | | | | |
| vor Hungern . . . . . | + | + | + | +? | — | — | — | — |
| nach » . . . . . | + | + | +? | — | — | — | — | — |

| | 1:2 | 1:4 | 1:8 | 1:16 | 1:32 | 1:64 | 1:128 | 1:256 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| c. Typhus »Dr.« | | | | | | | | |
| vor Hungern . . . . . | + | + | — | — | — | — | — | — |
| nach » . . . . . | + | + | — | — | — | — | — | — |
| d. Friedländ. ähnl Darmkeim | | | | | | | | |
| vor Hungern . . . . . | + | — | — | — | — | — | — | — |
| nach » . . . . . | + | — | — | — | — | — | — | — |
| 3. Kaninchen, gelb. | | | | | | | | |
| a. Roter Kieler | | | | | | | | |
| vor Hungern . . . . . | + | — | — | — | — | — | — | — |
| nach » . . . . . | +? | — | — | — | — | — | — | — |
| b. Koli desselben Tieres | | | | | | | | |
| vor Hungern . . . . . | + | + | + | — | — | — | — | — |
| nach » . . . . . | + | + | + | + | + | + | — | — |
| c. Typhus »Dr.« | | | | | | | | |
| vor Hungern . . . . . | — | — | — | — | — | — | — | — |
| nach » . . . . . | — | — | — | — | — | — | — | — |
| d. Cholera »S« | | | | | | | | |
| vor Hungern . . . . . | — | — | — | — | — | — | — | — |
| nach » . . . . . | + | — | — | — | — | — | — | — |
| 4. Kaninchen, grau. | | | | | | | | |
| a. Roter Kieler | | | | | | | | |
| vor Hungern . . . . . | +? | — | — | — | — | — | — | — |
| nach » . . . . . | +? | — | — | — | — | — | — | — |
| b. Koli desselben Tieres | | | | | | | | |
| vor Hungern . . . . . | + | + | + | — | — | — | — | — |
| nach » . . . . . | + | + | + | — | — | — | — | — |
| 5. Kaninchen, grau. | | | | | | | | |
| a. Roter Kieler | | | | | | | | |
| vor Hungern . . . . . | — | — | — | — | — | — | — | — |
| nach » . . . . . | — | — | — | — | — | — | — | — |
| b. Koli desselben Tieres | | | | | | | | |
| vor Hungern . . . . . | + | + | + | + | — | — | — | — |
| nach » . . . . . | + | + | + | + | + | — | — | — |
| c. Typhus »Dr.« | | | | | | | | |
| vor Hungern . . . . . | + | + | — | — | — | — | — | — |
| nach » . . . . . | + | + | — | — | — | — | — | — |
| d. Cholera »S« | | | | | | | | |
| vor Hungern . . . . . | + | + | + | + | — | — | — | — |
| nach » . . . . . | + | + | + | +? | — | — | — | — |

Aus diesen Versuchen geht hervor, daſs die Agglutinationswerte des Kaninchenserums gegenüber Typhus und Cholera

durch Hungern weder eine erhebliche Verminderung noch Erhöhung erfahren, sie blieben ungefähr auf gleicher Höhe. Auch gegen den dem hungernden Tiere verabreichten Roten Kieler, der, wie die voraufgehenden Versuche zeigten, bei der gleichen Versuchsanordnung in die Bluthahn und in die Organe übertritt, wurden Agglutinine nicht gebildet. Um so auffallender ist die Beobachtung, dafs bei drei von fünf Kaninchen unter dem Einflusse des Hungers der Agglutinationswert des Serums gegenüber dem aus dem Darm derselben Tiere vor der Hungerperiode isolierten Bact. coli deutlich anstieg. Es liegt die Vermutung nahe, dafs diese Erhöhung des Agglutinationstiters spezifischer Art ist und im Zusammenhange mit den oben wiedergegebenen Beobachtungen über den Übertritt von Darmkeimen während des Hungers steht. Man könnte hier einwenden, dafs ja dann auch gegenüber dem Roten Kieler Agglutinine gebildet sein müfsten. Es steht dahin, ob nicht bei Fortsetzung der Versuche und häufigerer Einführung dieses Keimes mit der Nahrung nicht doch auch eine Agglutininbildung angeregt werden kann. Man wird auch, um diese Differenz zu verstehen, an die verschiedenartige Qualität der geprüften Keimarten denken müssen. So darf man vermuten, dafs B. coli eher dazu befähigt sein dürfte, im Organismus eine Gegenreaktion anzuregen wie der saprophytische Kieler Wasserbazillus. Dafs die Agglutininbildung gegenüber dem B. coli des gleichen Tiers in einigen Fällen so prompt erfolgte, ja in einem Falle sogar ein beträchtliches Emporschnellen zur Beobachtung kam, deutet vielleicht darauf hin, dafs beim Kaninchen öfters Gelegenheit zum Eindringen von Darmkeimen gegeben ist; hierbei kann eine mehr oder weniger starke Bildung von Agglutininen hervorgerufen werden, die sich in der Folgezeit ganz oder teilweise verlieren. So wie man nun aber bei der künstlichen Immunisierung bei Tieren, die man nach Vorbehandlung mit spezifischen Keimen solange in Ruhe läfst, bis die spezifischen Agglutinine aus dem Blute verschwinden, durch eine erneute Verabreichung selbst kleiner, an und für sich zu stärkerer Agglutininanregung nicht befähigter Mengen des Infektionsstoffes einen rapiden Anstieg des Aggluti-

nationswertes erzielen kann (Rufus J. Cole[17]), so ist es auch hier möglich, daſs der Körper, der durch vorherige von Darmkeimen aus erfolgende Invasionen schon Agglutinine gebildet hatte, auf ein abermaliges späteres Eindringen, z. B. während des Hungerns, in intensiver Weise reagiert. Es würde damit auch zu verstehen sein, daſs nicht in jedem Falle beim Hunger dieser Anstieg kenntlich wird, und es würde sich der Widerspruch lösen, daſs gegenüber den verfütterten Keimen zunächst eine Erhöhung des Agglutinationswertes in den vorliegenden Versuchen nicht eintrat. Man kann es mithin nicht in jedem Falle einem Serum ansehen, ob der Rezeptorenapparat des Körpers keine oder sogar eine intensivere Reaktionsfähigkeit besitzt: in dem einen Falle zeigt das Fehlen der spezifischen Stoffe im Serum in der Tat, daſs der Organismus auf eindringende fremde Keime noch nicht eingestellt ist, im anderen Falle aber kann bei einer geringsten Attacke der Rezeptorenapparat in eine Aktion treten, die in keinem Verhältnis zu dem Angriff zu stehen braucht, d. h. ein geringer Anlaſs könnte eine sehr starke Gegenreaktion auslösen: in beiden Fällen kann der Serumbefund derselbe, der Ausgang aber ein total verschiedener sein.

Ganz kurz soll schlieſslich noch über Versuche berichtet werden, die die Frage nach dem Verhalten der bakteriziden Wirkung des Serums hungernder Tiere zum Gegenstande hatten. Die oben angeführten, bisher bekannt gewordenen Versuche in der gleichen Richtung widersprechen einander. Auch mir ist es bis jetzt nicht gelungen, Gesetzmäſsigkeiten aufzufinden. Die Versuche werden noch fortgesetzt und erweitert, hier soll nur berichtet werden, daſs ich beim bakteriziden Reagensglasversuche, entgegen der naheliegenden Annahme, das bakterizide Vermögen des Blutes müsse im Inanitionszustande unbedingt heruntergehen, in ebensoviel Fällen sogar eine Verstärkung der bakterientötenden Eigenschaften, in einigen Fällen ein Gleichbleiben konstatieren konnte. Eine Verallgemeinerung der am einzelnen Tier erhaltenen Ergebnisse ist auch hier durchaus nicht am Platze, und ebensowenig muſs es richtig erscheinen, sich an die zur Gewohnheit

gewordene Identifizierung von Blutserum- und Körperbeschaffenheit zu binden.

Wenn wir so bei der Untersuchung des Blutes hungernder Tiere keine Anhaltspunkte dafür gewinnen, dafs für den beim Hunger erfolgenden Übertritt von Darmkeimen das ausschlaggebende Moment in dem Serumverhalten zu finden sei, so ist es doch ebenso verfrüht, andere Veränderungen im Organismus, wie sie bei Nahrungsentziehung sich einstellen, dafür verantwortlich zu machen. Rechnet man aber zunächst mit dem, was wir wissen, so ist es doch wohl das Ungezwungenste, für die weitere Betrachtung von der beim Hunger so offensichtlich eintretenden Minderwertigkeit der Organe, von der Infirmität der Einzelzelle auszugehen. Wir wissen, dafs bei der Inanition die Funktion der Drüsen, insbesondere der Verdauungsdrüsen, aufs schwerste alteriert wird, und dafs der Darm zu denjenigen Organen gehört, die die relativ stärkste Gewichtsabnahme aufweisen; dafs ferner die Peristaltik darniederliegt und dafs, wie der Hungerkot zeigt, das Schleimhautepithel einer starken Abschilferung anheimfällt. Obwohl unsere Kenntnisse über die Verteidigungskräfte des normalen Magendarmkanals gegenüber Mikroorganismen noch sehr der Vertiefung bedürfen, so darf man wohl heute schon annehmen, dafs gerade die Integrität der Schleimhautdecke, die normale Quantität uud Qualität der Verdauungsdrüsensäfte und die geordnete Funktion der Peristaltik wichtige Glieder in dem komplizierten Mechanismus der Schutzapparate des Intestinaltraktus sein dürften.

Die vorliegenden, sowie die in Bd. 52, S. 179 und Bd. 53, S. 50 dieser Zeitschrift mitgeteilten Tierversuche sind mit Unterstützung der Gräfin Bose-Stiftung ausgeführt. Dem Kuratorium der Stiftung bin ich zu ergebenem Danke verpflichtet.

## Literatur.

1. Ficker, M., Diese Zeitschrift, Bd. 52, S. 179.
2. Conradi, H., Hofmeisters Beiträge, I. Bd., S. 193.
3. Schiesinger, E., ebenda, IV. Bd., S. 87.
4. Colin, Recueil de méd. vét., T. 5, Serie 6, S. 744.
5. Canalis, P. u. B. Morpurgo, Fortschr. der Medizin, Bd. 8, S. 693.
6. Bakunin u. Boccardi, Rif. med., 1891, S. 445.
7. John Gerrard, Veter. splen. discase, 1875, S. 32.
8. Oemler, Berl. Arch., 1876, S. 257.
9. Harris, 19. Annnal Report etc. Ref. Baumgarten, 1890, S. 544.
10. London, E. S., Compt. rend. (Acad.), T. 122, S. 1278.
11. Rosatzin, Th. in Lubarsch, Znr Lehre von den Geschwülsten, S. 77.
12. Meitzer u. Morris, Journ. of exper. med., Vol. 4, S. 131.
13. Ferranini, Ref. Baumgarten, 1896, S. 733.
14. Teissier u. Guinard, Arch. de Méd. expér., t. 9, S. 994.
15. Müller, P. Th., Diese Zeitschrift, Bd. 51, S. 365.
16. Bendivegna u. Carini, Lo Sperimentale, Vol. 54, Fasc. 5, S. 490.
17. Rufus, J. Cole, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 46, H. 3.

# Über das Verhalten der aeroben Keime gegenüber der absoluten Sauerstoffentziehung.

Von

Dr. **Walther Willimsky.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Rubner.)

Während die Frage der Sauerstoffbedürftigkeit der sogenannten Anaerobier zum extensiven Leben heute noch der definitiven Beantwortung harrt, ist es bei den aeroben Keimen keinem Zweifel unterworfen, dafs sie den Sauerstoff zur aktiven Lebensführung nötig haben. In der Oxydation der Nahrungsstoffe finden sie ihre Lebensenergie. Fehlt der Sauerstoff, so tritt Stillstand der Funktionen ein. Hesse(1) hat durch gasanalytische Versuche gefunden, dafs bei absoluter Sauerstoffentziehung eine Entwicklung der aeroben Keime auch nicht in Spuren nachweisbar ist. Die Gröfse des Wachstums läuft proportional mit der Gröfse der Sauerstoffaufnahme und der Kohlensäureausscheidung. Eine andere Frage ist es, ob die schädigende Einwirkung der Sauerstoffentziehung besonders bei längerer Dauer so eingreifend ist, dafs das Leben völlig erlischt, oder ob die Keime ein latentes, bei günstigen Bedingungen zu aktivem Leben wieder erweckbares Dasein zu fristen vermögen. Da Untersuchungen dieser interessanten Frage — systematischer Natur wenigstens — nicht zu bestehen scheinen, so habe ich eine Klärung dieser Verhältnisse herbeizuführen versucht.

Zu meinen Untersuchungen verwandte ich aerobe Keime, die keine Sporeu bilden, und zwar die Institutsreinkulturen: Cholera »Saratow«, Alcaligenes II und Fluorescens non liquefaciens. Bei der Versuchsanordnung ging ich aus von 20stündigen Agarstrichkulturen, die im Brutschrank bei optimaler Temperatur gewachsen waren, also Cholera und Alcaligenes bei 37°, Fluorescens non liquefaciens bei 27°. Angelegt waren die Kulturen so, dafs vorher aufgekochter Agar, immer in gleicher Menge und von derselben Herkunft, auf Petrischalen gleichen Durchmessers gegossen, und dann auf der festgewordenen Fläche mit derselben sterilen Platinnadel die gleiche Menge Material einer ebenfalls 20 Stunden bei optimaler Temperatur gewachsenen Kultur in parallelen Strichen aufgetragen wurde.

Zur Erzielung der Anaerobiose wurde die Methode der Verdrängung der atmosphärischen Luft durch Wasserstoff gewählt, unter Benutzung des von Bischoff(2) zur Anaerobenzüchtung angegebenen Apparates, eines mit Ab- und Zufluſsvorrichtung versehenen und luftdicht abschlieſsbaren Glaszylinders, der in zweckmäſsiger Weise den exakten Gastausch gestattet. Der Wasserstoff wurde nicht entwickelt, sondern einer fabrikmäſsig hergestellten Wasserstoffbombe mit 1500 l Inhalt entnommen. Er erwies sich bei der Prüfung als chemisch rein. Die Handhabung der Technik war folgende: Nachdem in dem im Bischoffschen Apparat befindlichen Plattengestell die Kulturplatten so untergebracht waren, dafs die Impffläche nach unten sah, wurde das unter starkem Druck ausfliefsende Wasserstoffgas 15—20 Minuten durch den Apparat geleitet. Um die womöglich noch zurückgebliebenen Spuren von Sauerstoff zu tilgen, wurde in die am Boden des Zylinders befindliche Glasschale mit Pyrogallussäure 10proz. Kalilauge aspiriert, nachdem vorher mittels der Wasserstrahlpumpe ein Vakuum erzeugt worden war. Alle diese Handhabungen wurden mit äufserster Vorsicht ausgeführt und zum Schlufs der Apparat überall da, wo er nicht in toto zusammenhing, mit Paraffin überzogen. Auf diese Weise wurde eine sauerstofffreie Atmosphäre gewährleistet und dadurch demonstriert, dafs auch nach mehreren Wochen die Pyrogallussäure

nicht den bekannten braunschwarzen Ton annahm, sondern eine helle, leicht gelbliche Farbe behielt.

Wenn in der eben erschienenen Arbeit von Cl. Fermi und Bassu(3), die sich mit der Kritik der Technik der Anaerobiose beschäftigt, die Unzulänglichkeit der Methode der Luftverdrängung durch Wasserstoff aus der sofortigen Bräunung der Pyrogallussäure gefolgert werden konnte, so liegt das meiner Überzeugung nach daran, dafs das Durchleiten des unter gar keinem oder nur sehr geringem Druck stehenden, auf gewöhnliche Art entwickelten Gases nicht den Effekt hat wie der energische Strahl des komprimierten Gases der Bombe, der die Luft vor sich hinwegfegt und den Raum sozusagen auswäscht.

Auf die Frage der Sauerstoffreinheit des Nährbodens wird noch zurückgekommen werden.

Um Fehlerquellen auszuschalten, wurde das Fernhalten sekundärer schädigender Momente nicht aufser acht gelassen. Die Wirkung des Lichtes, dem im sauerstofffreien Raum eine erhöhte bakterizide Wirkung zukommt, wurde ausgeschaltet, indem die Zylinder in einem dunklen Raum untergebracht wurden. Der Austrocknung des Nährbodens war nach Möglichkeit vorgebeugt, da der Apparat in seiner Anordnung an und für sich eine feuchte Kammer darstellte. Was die Temperatur betrifft, so wurden die Apparate bei Zimmertemperatur belassen, da nach den Untersuchungen von Gotschlich und Weigang(4) bei längerem als 20stündigem Verweilen im Brutschrank ein rapides Zugrundegehen der Keime stattfindet, so dafs z. B. die bei 37° gehaltene Cholerakultur nach zwei Tagen nur noch 10%, nach drei Tagen nur noch 1% der Individuen am Leben hat, während eine rechtzeitige Übertragung aus dem Brutschrank in eine niedere Temperatur ein längeres Verweilen der Individuenzahl auf der ursprünglichen Höhe zur Folge hat.

Zum Vergleich ging parallel mit dieser anaeroben Anordnung eine aerobe, indem diesmal die Zylinder die Luftatmosphäre behielten, im übrigen aber die Kulturen unter denselben Bedingungen gehalten wurden.

Nachdem die Kulturplatten verschieden lange Zeit unter Anaerobiose gehalten worden waren, wurde die Methode der quantitativen Keimbestimmung angewandt, um zu ermitteln, ob und wieviel Individuen beim Überführen in günstige Lebensbedingungen wieder zum Keimen gebracht werden können.

Von dem Kulturbelag wurde eine Pfeiffersche Normalöse (1 mg), — die, wie wir uns überzeugten, auch in unseren Händen ein brauchbares Mafs abgab — ohne strikte Unterscheidung von Randpartien und Zentrum des Kulturrasens abgehoben. Die nötige Verdünnung wurde erzielt durch Aufschwemmung dieser Einheitsmenge in indifferenter Aufschwemmungsflüssigkeit (Ficker[5]) — Erlenmeierkölbchen mit 50 ccm — und weitere Verteilung von 0,2 ccm dieser ersten Aufschwemmung in einem zweiten Kölbchen mit 50 ccm derselben Flüssigkeit. Mit der mit 0,2 ccm dieser zweiten Aufschwemmung innig vermischten Nährgelatine von immer der gleichen Menge (8 ccm) wurden dann Platten gegossen und nach zweitägigem Aufbewahren bei optimaler Temperatur die Kolonienzählung mit dem Zählmikroskop vorgenommen.

Die Berechnung ergab die folgenden Zahlenwerte.

**I. Cholera „Saratow".**

Keimzahl der in 20 Stunden bei 37° gewachsenen Kultur im Durchschnitt:
1 Normalöse = 720 000 000.

| Keimzahl der bei Zimmertemperatur gehaltenen Kultur | | |
|---|---|---|
| in Luft | nach Tagen | in Wasserstoffatmosphäre |
| 796 109 000 | 1 | 470 800 000 |
| 723 759 000 | 2 | 374 750 000 |
| 689 375 000 | 3 | 359 429 000 |
| 458 326 000 | 4 | 169 801 000 |
| 372 532 000 | 5 | 137 625 000 |
| 256 938 000 | 6 | 93 587 000 |
| 160 240 000 | 7 | 72 360 000 |
| 21 209 100 | 23 | 12 550 000 |

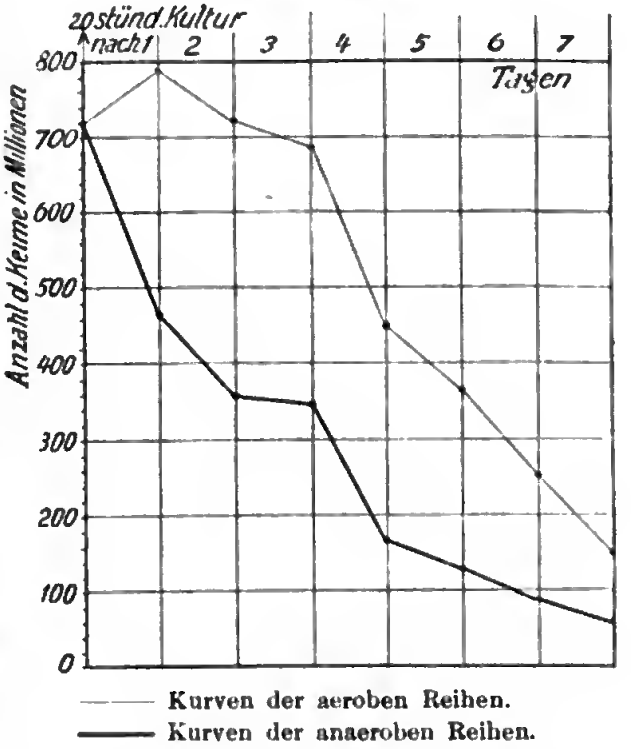
**II. Alkaligenes II.**
Keimzahl der in 20 Stunden bei 37° gewachsenen Kultur:
1 Normalöse = 475 000 000.

| Keimzahl der bei Zimmertemperatur gehaltenen Kultur | | |
|---|---|---|
| in Luft | nach Tagen | in Wasserstoffatmosphäre |
| 482 487 000 | 1 | 310 062 000 |
| 471 754 000 | 3 | 271 143 000 |
| 313 529 000 | 4 | 227 598 000 |
| 226 841 000 | 5 | 184 485 000 |
| 110 493 000 | 6 | 105 271 000 |

**III. Fluorescens non liquefaciens.**
Keimzahl der in 20 Stunden bei 27° gewachsenen Kultur:
1 Normalöse = 1 175 000 000.

| Keimzahl der bei Zimmertemperatur gehaltenen Kultur | | |
|---|---|---|
| in Luft | nach Tagen | in Wasserstoffatmosphäre |
| 1 649 867 000 | 1 | 696 340 000 |
| 1 262 216 000 | 2 | 408 745 000 |
| 1 155 000 000 | 3 | 376 500 000 |
| 751 000 000 | 5 | 321 580 000 |
| 493 587 000 | 6 | 235 875 000 |

**I. Cholera „Saratow".**



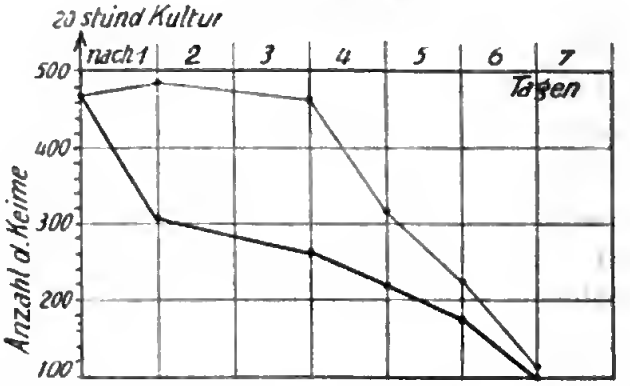

——— Kurven der aeroben Reihen.
——— Kurven der anaeroben Reihen.

Am auffallendsten ist zunächst an diesen Resultaten der Unterschied in der Keimzahl der anaerobiotisch und der aerobiotisch gehaltenen Reihe, der am markantesten gleich am 1. Tage einsetzt. Dafs dieser Unterschied nicht blofs in dem Wachstumsstillstand der anaerob gehaltenen Kulturen einerseits und einer weiteren Vermehrung der aerob gehaltenen anderseits besteht, zeigt die Keimzahl der 20-stündigen Kultur, von der jedesmal ausgegangen wurde, und die sich in denselben engen Grenzen hielt. Wie schon Gotschlich und Weigang zeigten, ist nämlich das Maximum der Entwicklung der bei Bruttemperatur gehaltenen Kulturen schon

in den ersten 12 bis 20 Stunden erreicht, und dann tritt der Abfall ein, oder es erfolgt beim Versetzen in niedere Temperatur höchstens noch ein kurzer Anstieg, der, wie in unseren Versuchen, einen Zuwachs, am 1. Tage von 9,5% an Keimen bei Cholera, 1,75% bei Alcaligenes und 40% bei Fluorescens non liquefaciens in der Einheit darstellt.

Wenn wir bei der anaeroben Anordnung die Vermehrung als durch Wachstumsstillstand aufgehoben betrachten — was, wie wir noch sehen werden, nicht ganz den Tatsachen entspricht — und beim zahlenmäfsigen Vergleich von der Individuenmenge

**II. Alkaligenes II.**



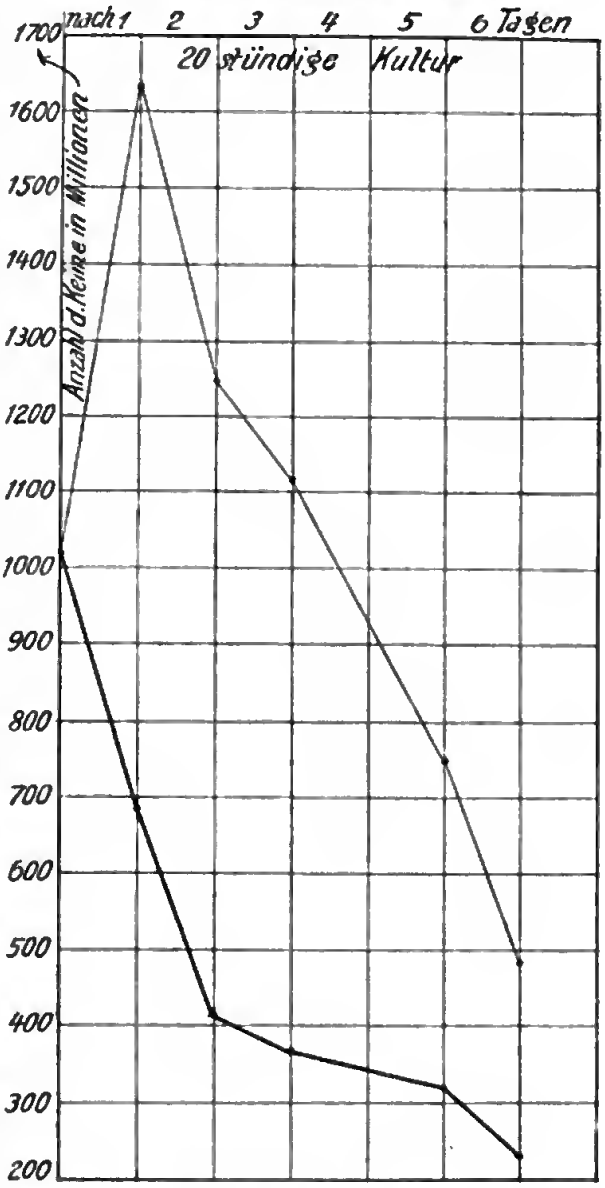

der 20stündigen Kultur ausgehen, so zeigt sich, dafs schon nach eintägiger Einwirkung bei Cholera 35%, bei Alcaligenes 35% und bei Fluorescens non liquefaciens 43% nicht mehr zum Auskeimen gelangen. Dafs dieser Ausfall auf dem Absterben der Keime und nicht blofs auf einem weiteren Verharren in einem latenten Zustand beruht, erhellt daraus, dafs die optimalen Lebensbedingungen — freier Zutritt von Sauerstoff, günstiger Nährboden, Bruttemperatur — selbst nach mehrtägiger Einwirkung keinen anderen Erfolg hatten, eine weitere fortgesetzte Beobachtung der Aussaatplatten keinen Zuwachs etwa sich erholender Kolonien konstatieren konnte, und dafs schliefslich eine fortgesetzte Zählung der nach der Anaerobiose an die Luft gebrachten Ausstrichplatten eine Zunahme der Keime nicht ergab.

Der andere ausgekeimte Teil hatte die Schädigung vertragen, und es lag die Frage nahe, ob denn auch alle Keime der Kul-

turen unter denselben anaeroben Bedingungen gestanden hatten. Wie das schon von vornherein zu verneinen war, so ergab auch eine andere Versuchsanordnung, dafs dies nicht der Fall war.

Bei der aufserordentlichen Schwierigkeit der technischen Aufgabe, absolut anaerobe Verhältnisse im strengsten Sinne zu schaffen, war von vornherein damit zu rechnen, dafs, wenn schon die Atmosphäre sauerstofffrei genannt werden konnte, doch Spuren am Glase und vor allem im Nährboden trotz der Erhitzung desselben zurückbleiben würden. Und daraus war weiter zu schliefsen, dafs bei der beschriebenen Anordnung die Keime des Kulturrasens, die dem Nährboden am nächsten sind, ihm die Spuren von Sauerstoff begierig entziehen und so ihr Leben fristen, anfangs sogar eines geringen Wachstums fähig sein könnten.

III. Fluorescens non liquefaciens.




Dafs das tatsächlich der Fall war, hatte eine zweite Versuchsanordnung gezeigt. Hier wurden nicht, wie oben, die zu massigen Belägen herangewachsenen Strichkulturen dem Versuch unter-

worfen, sondern es wurden auf einer Agarplatte 2 Tropfen einer Aufschwemmung der 3 Keimarten in indifferenter Flüssigkeit mit dem Glasspatel verrieben, und die so präparierten Petrischalen unter dieselbe anaerobiotische Anordnung wie oben gebracht, nur dafs die Zylinder gleich in den Brutschrank kamen. Hierbei zeigte sich nun schon nach einem Tage, dafs die Keime keine Abnahme zeigten, sondern zu Kolonien herangewachsen waren, die allerdings im Verhältnis zu den auf den aerob gehaltenen Kontrollplatten verschwindend klein waren und sich nicht weiter vergröfserten. Damit stimmt auch die Beobachtung Hesses überein, wonach Choleraeiweifskulturen, die in Wasserstoffatmosphäre gehalten wurden, nur in den ersten Tagen abnehmende Mengen von Kohlensäure produzierten, was sich nur damit erklären läfst, dafs der Nährboden Spuren von Sauerstoff enthielt, die eine Respiration und Vegetation gestatteten. Daraus ergeben sich die Schlüsse:

Während in diesem Falle jeder Keim sozusagen seinen eigenen Acker hatte, der ihm in den Zeiten der Not auch den Sauerstoff lieferte und ihn der einsetzenden Schädigung nicht ganz hilflos aussetzte, konnten bei der anderen Versuchsanordnung, wo die Keime in grofsen dicken Massen zusammengelagert waren, nur die zum Nährboden günstig postierten diesen Ortsvorteil geniefsen, die anderen aber wurden, des Sauerstoffs der Luft und des Bodens beraubt, tatsächlich unter absolut anaerobiotische Verhältnisse gesetzt und mufsten, von der plötzlichen Sauerstoffentziehung überrascht, ersticken.

Vergleichen wir den Erfolg dieser eintägigen Einwirkung der Anaerobiose mit dem einer zunehmenden mehrtägigen und denken uns zur besseren Anschaulichkeit die Zahlenwerte graphisch dargestellt, so kommen wir unter Berücksichtigung des Verhaltens der aerobiotisch gehaltenen Reihe noch zu folgenden weiteren Schlüssen:

Die Kurve der aerobiotisch gehaltenen Keime ist bei allen 3 Keimarten dadurch ausgezeichnet, dafs nach dem kurzen Anstieg am ersten Tage ein kontinuierlicher Abfall folgt, und dafs dieser Abstieg am 4. Tage am steilsten ist. Diese Erscheinung

des Absterbens mit den bekannten ursächlichen Faktoren wird naturgemäfs auch bei der Beurteilung der Resultate der anaerobiotisch gehaltenen Reihe Berücksichtigung finden müssen. Die Zahlenkurve der anaerob belassenen Keime charakterisiert sich durch einen steilen Abfall am ersten Tage, der aber an den folgenden Tagen nicht in gleicher Weise anhält, sondern in einen sanfter absteigenden Bogen übergeht. Mit der aeroben Reihe verglichen, sind die täglichen Differenzen der anaeroben Zahlenwerte noch geringer, so dafs die beiden in demselben Felde eingetragenen Kurven einander immer näher kommen, mit anderen Worten: der Effekt der Sauerstoffentziehung ist in den ersten Stunden der Einwirkung weitaus am gröfsten; alle ungünstig gelagerten und weniger widerstandsfähigen Keime gehen bald zugrunde, die anderen günstiger postierten vermögen ihr Leben auf die Spuren des Sauerstoffs im Nährboden einzustellen und unter steter Auslese der passendsten dahin geführt zu werden, mit immer geringeren Mengen von Sauerstoff auszukommen, so dafs auf diese Weise wenigstens ein latentes Leben möglich ist. Die im Verhältnis zur aeroben Reihe geringeren Differenzen in der Abnahme der Keime sind damit zu erklären, dafs die überlebenden Keime auf demselben Raume infolge ihrer geringeren Anzahl nicht mit soviel Konkurrenten zu kämpfen haben und jene Faktoren der Nährbodenerschöpfung und Stoffwechselgiftbildung infolgedessen in schwächerem Mafse einwirken.

Die Frage der allmählichen Anpassung, die hiermit berührt wurde, wurde noch durch weitere Versuche zu beantworten gesucht. Ausgegangen wurde diesmal von einer schon 8 Tage anaerobiotisch gehaltenen Fluorescens non liquefaciens-Kultur. In bekannter Weise folgte dem Ausstrich dieser Kultur auf eine neue Agarplatte ein 20stündiger Aufenthalt bei 27° im Brutschrank und dann die Anaerobiose bei Zimmertemperatur.

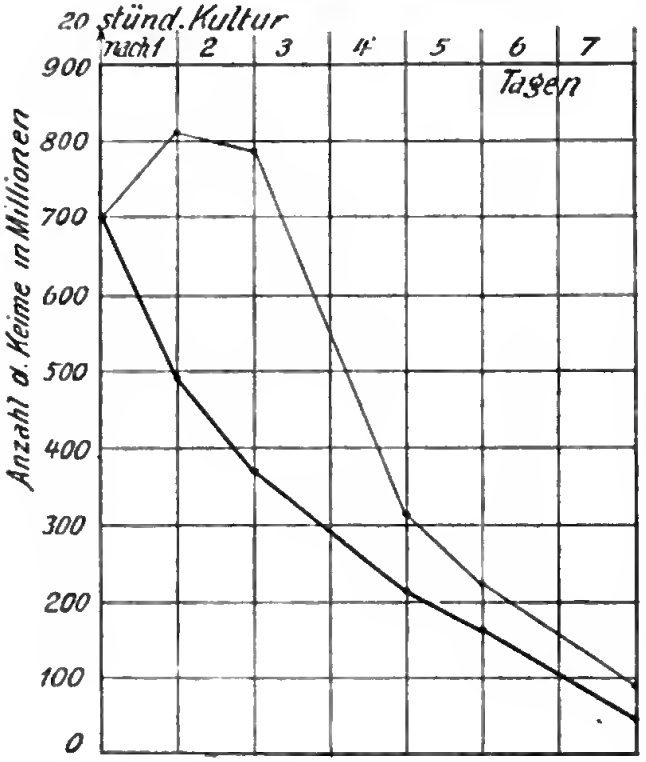
**Fluorescens non liquefaciens.**

II. Generation (I. Generation 8 Tage in Wasserstoffatmosphäre gehalten).
20stündige bei 27° gewachsene Kultur: 700 000 000 Keime (1 Normalöse).

| Keimzahl in | | |
|---|---|---|
| Luft | nach Tagen | Wasserstoffatmosphäre |
| 809 119 000 | 1 | 499 360 000 |
| 792 533 000 | 2 | 384 407 000 |
| 304 337 000 | 4 | 219 060 000 |
| 226 402 000 | 5 | 173 041 000 |
| 91 928 000 | 7 | 56 663 000 |

Vergleichen wir die Zahlenwerte dieser zwei Generationen hindurch anaerobiotisch gehaltenen Kultur mit jener nur eine Generation unter Anaerobiose gestandenen, so ergibt sich, dafs die Zahlenkurven an und für sich im Prinzip gleich verlaufen. Eine Verschiedenheit besteht aber darin, dafs in der zweiten Generation eine durchgehende beträchtliche annähernd proportionale Verminderung der Keimzahl in der Einheit zu konstatieren ist, die, wie die Zahl der 20stündigen Kultur zeigt, 33% ausmacht. Die Wachstumsintensität der Keime hat also durch die 8tägige Anaerobiose um $^1/_3$ gelitten. Ein weiterer Unterschied besteht in dem Verhältnis der aeroben und anaeroben Reihe. Zwar ist auch hier der Untergang der Keime am ersten Tage am bedeutendsten, doch ist das Prozentverhältnis der lebengebliebenen Keime ein anderes. Während dort nach eintägiger Anaerobiose nur 57% der Keime am Leben blieben, sind es bei der 2. Generation schon 70%. Es scheint also, dafs durch die achttägige Anaerobiose eine Auslese der geeignetsten Keime stattgefunden hat, die, auf eine erneute Anaerobiose besser gerüstet und angepafst, der einsetzenden Schädigung nicht mehr so schnell erliegen. Man wird allerdings auch beachten müssen, dafs bei der, wie oben hervorgehoben, eingetretenen Verminderung der Keimzahl in der Einheit die Keime im ganzen besser

**Fluorescens non liquefaciens.**



gestellt sind, und dieser Umstand zur Verbesserung des Sterblichkeitsverhältnisses beigetragen haben kann.

Weiterhin wurde in einem zweiten Versuch die Anaerobiose durch 10 Generationen fortgesetzt. Ausgegangen wurde von einer 23 Tage anaerobiotisch gehaltenen Choleraagarstrichkultur. Von dieser wurden Keime in gleicher Menge auf neue Agarplatten übertragen und der anaerobiotischen Anordnung mehrere Tage unterworfen. Die zu kümmerlichen Kolonien ausgewachsenen Keime der zweiten Generation wurden erneut auf Agarplatten ausgestrichen und sofort wieder anaerobiotisch gehalten, und dies so 10 Generationen hindurch fortgesetzt, wobei jede 3—7 Tage unter anaerobiotischen Bedingungen stand. Eine merkbare Anpassung, die sich durch schnelleres Wachstnm oder Zunahme in der Gröfse der Kolonien gezeigt hätte, konnte aber nicht nachgewiesen werden.

Die Hauptergebnisse der Arbeit lassen sich kurz, wie folgt, formulieren:

Die aeroben Keime vermögen ihr Leben auf minimale Spuren von Sauerstoff einzustellen und zwar nm so besser, je langsamer die Sauerstoffentziehung erfolgt; bei absoluter Anaerobiose aber sterben sie ab, und zwar um so schneller, je plötzlicher diese herbeigeführt wird.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Geh. Med.-Rat Professor Dr. Rubner für die Anregung zu dieser Arbeit, Herrn Professor Dr. Ficker für seine stets freundliche Unterstützung meinen aufrichtigen Dank auszusprechen.

## Literatur.

1. Hesse, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. XV, S. 17.
2. Bischoff, Veröffentl. a. d. Gebiet d. Militär-Sanit.-Wesens, Heft 23.
3. Cl. Fermi u. Bassu, Centralbl. f. Bakteriol., Origin.-Mitt., I, Bd. XXXV.
4. Gotschlich u. Weigang, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. XX, S. 376.
5. Ficker, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. XXIX.

# Zum Nachweis fäkaler Verunreinigung von Trinkwasser.

Von

Oberarzt Dr. **Christian.**

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Rubner.)

Unter Brauchbarkeit eines Trinkwassers versteht man eine Summe von Eigenschaften, die schon seit längerer Zeit feststeht und als Richtschnur für Begutachtungen dienen soll. Die Anforderungen, welche zu stellen sind, unterliegen je nach den Bedürfnissen der Konsumenten des Wassers in gewissem Grade Schwankungen, welche im Einzelfalle sorgsam zu erwägen sind. Für viele Bestandteile lassen sich unabänderliche Grenzwerte gar nicht angeben, weil einzelne Vorkommnisse z. B. der Chloride, des Ammoniaks, mit Rücksicht auf die Herkunft und Entstehung des Wassers eine wechselnde gesundheitliche Bedeutung haben.

Je eingehender ein Wasser in seinen Eigenschaften studiert wird, je mehr Merkmale desselben genau untersucht werden, um so zuverlässiger wird auch die kritische Beurteilung werden.

Wenn von einigen Autoren die Beurteilung von Trinkwasser und speziell der Brunnenwässer soweit eingeschränkt wird, dafs man nur auf die örtliche Inaugenscheinnahme Wert legen soll, so ist dieser Standpunkt in vielen Fällen geradezu ein Verzicht auf jede wissenschaftlich exakte Beurteilung eines Wassers, und mit Recht haben sich weite Kreise von Sachverständigen gegen eine derartige oberflächliche Betrachtungsweise der vorstehenden bedeutungsvollen Fragen ausgesprochen.

Chemische, physikalische und biologische Methoden liefern uns wichtige Unterlagen für die Beurteilung des Trinkwassers,

nur das fehlerhafte Bestreben, schematisch an der Hand von wenigen Charakteren alle Trinkwässer beurteilen zu wollen, hat zu ergebnislosen Prüfungsreihen geführt.

Die Beurteilung des Wassers ist eine schwierige Aufgabe, und wer die Mittel zur fachmännischen Beurteilung nicht besitzt, sollte auf gutachtliche Äufserungen verzichten; diejenigen Kreise, welche sich berufen fühlen, in Sachen der Trinkwässer mit zu beraten, können nicht verlangen, dafs die Trinkwasserprüfung mit Rücksicht auf mangelnde Vorkenntnisse tunlichst vereinfacht werde, sondern haben ihre Ausbildung entsprechend den zu lösenden Aufgaben zu vervollkommnen.

Es erscheint auch viel wichtiger, wenige Wässer genau als zahllose Wasserproben nach unzureichender Methodik zu untersuchen.

Die weitere Ausbildung der Untersuchungsmethodik ist dringend zu wünschen und jeder Fortschritt in der Möglichkeit, weitere Merkmale des Trinkwassers mit Sicherheit zu bestimmen, mit Genugtuung zu begrüfsen.

Die bakteriologische Untersuchung hat sich zumeist nur auf Keimzählung erstreckt, eine Methode, die wohl für bekannte, unter danernder Kontrolle stehende Wässer einen feinen Indikator für Verunreinigung darstellt, für erstmalige Untersuchungen aber völlig unzureichend ist.

Hier liegt das Bedürfnis nach einer Methode vor, die Schädlichkeit bzw. Gefährlichkeit eines Wassers oder dessen Unschädlichkeit deutlich zu erweisen. In diesem Sinne sind schon eine ganze Anzahl von Versuchen gemacht worden, die in verschiedene Richtungen gegangen sind. Ich will nur einen Weg verfolgen, der mir der aussichtsreichste zu sein scheint.

Fragen wir uns, woher die Gefahren stammen, die im Trinkwasser die Gesundheit des Menschen bedrohen, so kommen fast ausschliefslich die menschlichen Ausscheidungen, und hierbei in erster Linie der Kot, in Betracht. Bei Cholera und Dysenterie scheinen die Fäces die einzige Infektionsquelle zu bilden, beim Typhus kommt noch der Urin hinzu, aber erst in zweiter Reihe. Hinter diesen beiden treten die übrigen Abfallstoffe, was die

Digitized by Google

Trinkwasserinfektion anlangen könnte, ganz zurück. Abgesehen davon werden wohl in der Mehrzahl der Fälle sämtliche menschliche Ausscheidungen auf demselben Weg in das Wasser gelangen können, oder wenigstens wo das eine möglich ist, kann das andere nicht ausgeschlossen werden. Es ist also gerechtfertigt, wenn man nur aus dem Vorhandensein einer Verunreinigung durch Fäces auf die bedrohliche Nähe einer Infektionsquelle schliefst. Zum Nachweis einer solchen fäkalen Verunreinigung liegt es nahe, den im Kot so reichlich vorhandenen Kolibazillus als Indikator zu wählen. Und das ist seit langem des öfteren geschehen. Wie richtig mau diese Überlegung angestellt hatte, zeigt beispielsweise eine Filterprüfung, die Clark und M'Gage[1] in der amerikanischen Stadt Lawrence ausgeführt haben. Nach einer Reparatur des Filters war dasselbe undicht geworden. Im filtrierten Wasser konnten Kolibakterien nachgewiesen werden. Zugleich trat in der Stadt eine Typhusepidemie auf, die nach 3 Monaten wieder erlosch, zur selben Zeit, als im filtrierten Wasser in je 1 ccm Bacterium coli uicht mehr gefunden werden konnte. Hier steht es aufser Frage, dafs der Kolibazillus die fäkale Verunreinigung und somit die Infektion des Wassers anzeigte. Kann man nun diese Schlufsfolgerungen, deren Berechtigung in dem besonderen Falle aufser Zweifel steht, verallgemeinern?

Zur Entscheidung dieser Frage mufs man auf den Begriff »Bacterium coli« näher eingehen. Wir verstehen unter diesem Namen ein Stäbchen, das gewisse Eigenschaften besitzt und im Darm vorkommt. Es gibt aber auch aufserhalb des Darms Bakterien, die sämtliche allgemein bekannten Eigenschaften des Darmbewohners besitzen, ohne jemals selbst durch ihre Herkunft oder vermöge ihrer Abstammung zu den Darmbewohnern zu zählen. Nehmen wir nur einige dieser Eigenschaften zum Kriterium, so fällt der Begriff »Bacterium coli« so weit aus, dafs wir eine ganze Gattung darunter rechnen müssen. Aus diesem Grunde hält Kruse[2] das Bacterium coli für ganz ungeeignet zum Nachweis fäkaler Verunreinigung. Wenn er zum Nachweis die morphologischen Verhältnisse, das Wachstum auf den gewöhnlichen

Nährböden, das Verhalten zu zuckerhaltigen Substraten und zu Milch in Betracht zog, so glaubte er sie fast überall finden zu können, »oft genug in Wässern, die nicht einmal anderen Verunreinigungen, geschweige denn denen durch Fäkalien ausgesetzt seien«. Weifsenfeld[3] hat hierfür einen experimentellen Beitrag geliefert, indem er eine gröfsere Anzahl von Brunnenwässern untersuchte. Er fand in jedem Falle Kolibazillen, freilich bei den guten Wässern erst, wenn er 1 l dem Anreicherungsverfahren unterzog. In gleicher Weise fand v. Freudenreich[4] in den meisten Wässern Kolibazillen, wenn er nur eine genügend grofse Menge zur Uutersuchung nahm; nur die »sehr guten« Wässer waren frei von ihnen.

Diesen Befunden, die für die Ubiquität der Kolibakterien zu sprechen scheinen, wird durch andere Beobachtungen widersprochen, und das hat seiuen Grund in der Verschiedenheit der Nachweismethoden. Je strenger man die Anforderungen zur Identitätsbestimmung stellte, desto seltener wurden die ubiquitären Kolibazillen. Weifsenfeld betrachtete alle diejenigen Mikroorganismen als Kolibakterien, die mittelgrofse Bazillen darstellten, auf Gelatine weinblattähnliche Kolonien und im Zuckeragarstich Gas bildeten, mehr oder weniger beweglich oder unbeweglich waren und sich nicht nach Gram färbten. Er versuchte zunächst ihr Wachstum bei 37° in Bouillon oder Peptonkochsalzlösung mit Pariettischem Zusatz (Phenol und Salzsäure) zu erhalten; kam er damit nicht zum Ziel, so liefs er den (Pariettischen) Zusatz weg.

v. Freudenreich benutzte die Pariettische oder die Vincentsche Methode (Peptonwasser, 0,07% Phenol, Bebrütung bei 42°) oder auch die Milchzuckervergärungsprobe bei 35° und fand so das Fehlen der Kolibakterien in den sehr guten Wässern.

Schardinger[5], der das Wasser mit Traubenzuckerbouillon vermischte, bei 37° bebrütete und dann den Kolinachweis durch Prüfung auf fäkulenten Geruch, auf Indol und Schwefelwasserstoff führte, fand die in Frage stehenden Bakterien nicht so ungemein verbreitet, in vielen hundert Wasseruntersuchungeu nur 5 Mal und niemals als zufällige Luftverunreinigung auf

Platten. Abbe(6) benutzt eine Milchzuckerpeptonkochsalzlösung zu seinen Versuchen, Houston(7) anderseits legt Schüttelkulturen in Zuckergelatine an und hält sie bei 20°, in der Absicht, sämtlichen vergärenden Keimen, auch denen, die höhere Temperaturen nicht vertragen, das Wachstum zu gestatten.

Petruschky und Pusch(8) wieder legen Wert darauf, die Kolibakterien bei 37° in Bouillon anzureichern und glauben auf diese Weise die Wasserkeime auszuschliefsen, die bei niederen Temperaturen sich immer vorgedrängt und die Täuschung einer Fäkalverunreinigung hervorgerufen hatten. Sie fügen den kennzeichnenden Merkmalen noch die Säurebildung (Rötung der Lackmusmolke) hinzu. Alle die zuletzt erwähnten Untersucher finden in reinen Wässern keine Kolibakterien und stellen diesen Mikroorganismen ein gutes Zeugnis für ihre Brauchbarkeit als Indikatoren fäkaler Verunreinigung aus.

Es ist leicht zu sehen, dafs man in der Erkenntnis des wahren Zusammenhanges weiter gekommen ist, je mehr man den Begriff »Bakterium coli« einschränkte. Auf die Methoden hierzu im einzelnen kritisch einzugehen, ist nicht nötig; zweifellos beruhen sie auf sorgfältigem Studium der Lebensvorgänge des Mikroben und bestehen zu recht. Nur möchte ich das Phänomen der Indolbildung und die Fähigkeit der Tierpathogenität, das beispielsweise von Levy und Bruns(9) vorgeschlagen ist, nicht für eben wertvoll anschlagen, da es echte Kolistämme gibt, die diese beiden Forderungen nicht erfüllen.

Was nun aus der Erörterung der ganzen Frage hervorgeht, ist die Tatsache, dafs der Nachweis des Bact. coli ein sehr komplizierter ist, wenn man sicher sein will, das echte Bact. coli vor sich zu haben. Alle erwähnten Methoden zusammen sind aber noch nicht einmal einwandsfrei, weil der Beweis fehlt, dafs die mit ihrer Hilfe identifizierten Bakterien nur aus dem menschlichen Darm stammen können, vielmehr wird später gezeigt werden, dafs dies sehr zweifelhaft ist. Dieser Beweis könnte erbracht werden, wenn man ein spezifisches Serum anzuwenden in der Lage wäre, wie dies auch schon gefordert worden ist. Allein hier läfst uns die Technik im Stich, da es ja schon sehr

schwer ist, ein polyvalentes Koli-Serum zu erlangen, wird uns ein omnivalentes kaum jemals gelingen. Auch ist ein solches Verfahren für die Praxis viel zu umständlich.

Einen grofsen Fortschritt in der Frage des Koli-Nachweises haben wir meines Erachtens Eijkmann[10] zu verdanken, der die Fähigkeit der Kolibazillen, noch bei 46° üppig zu gedeihen, betont und diese zusammen mit dem Zuckervergärungsvermögen als Versuchsbasis benutzt hat. Vor ihm haben bereits Vincent (s. o.) und v. Freudenreich (s. o.) eine Temperatur von 42° angewandt. Rodet[11] hat für Typhusisolierung ein Verfahren angegeben, das die Temperatur von 45—45,5° erfordert, hat aber auch bereits darauf hingewiesen, dafs die Ermittelung des Temperaturmaximums für alle Bakterien ein ausgezeichnetes Mittel zu ihrer Identifizierung sei. Eijkmann setzt Gärungskölbchen mit dem zu untersuchenden Wasser an, dem er durch Zusatz einer Vorratslösung einen Gehalt von ca. 1% Traubenzucker, 1% Pepton und 0,5% Kochsalz verleiht, und bebrütet sie bei 46°. Bei verunreinigtem Wasser findet er nach 24 Stunden Bact. coli in Reinkultur, oder wenigstens in überwiegender Mehrheit, die gesamte Flüssigkeit diffus getrübt und mehr oder weniger, aber stets deutliche Gasbildung. Bei reinem Wasser bleibt die Flüssigkeit meist klar, um höchstens nach 2 mal 24 Stunden nur im offenen Schenkel und dem daran grenzenden Teil des geschlossenen Schenkels eine leichte Trübung, aber keine Gasbildung zu zeigen.

Das Verfahren hat den Vorzug, einfach und leicht ausführbar zu sein; die Frage ist nur die: ist es hinreichend experimentell gestützt, um von vornherein als einwandsfrei zu gelten. Das ist nun zunächst nicht der Fall und zwar aus dem Grunde, weil wir kein absolutes Kriterium für den echten Kolibazillus haben. Es bleibt also nichts übrig, als die praktische Leistungsfähigkeit der Methode an einer möglichst grofsen Anzahl von Wässern zu erproben, deren Verhältnisse bekannt sind, und einen Rückschlufs auf den Wert der Methode erlauben. In diesem Sinne hat uns Eijkmann bereits ein beachtenswertes Material geliefert. In sämtlichen »unverdächtigen« Wassersorten

wurde 46° Gärung auch bei gröfseren Versuchsmengen (300 ccm) niemals, bei »verdächtigen« auch in Bruchteilen eines Tropfens stets gefunden. Ferner zeigten 2 Wässer, die vor Verunreinigung mit menschlichen Fäces geschützt waren, sonst aber sowohl offensichtlichen Schmutz (Enteugrün, Laub, Insektenlarven) als auch eine reiche mikroskopische Fauna und Flora erkennen liefsen, in mehrfachen Untersuchungen negativen Ausfall der Probe.

Von den Berliner Wässern, die ich mit dieser Methode oder vielmehr mit denen ich die Methode prüfte, zeigten die verunreinigten stets positiven Ausfall, meist noch, wenn ich dem Versuch winzige Quantitäten unterzog. Ich stellte mir zu diesem Zweck »Verdünnungen« mit sterilem Wasser von 1 : 100, 1 : 1000, je nach Bedürfnis her und tat hiervon 0,01, 0,02 ccm etc. zu der Zuckerbouillon je eines Gärungskölbchens. Dafs die Berliner Kanaljauche noch in riesigen Verdünnungen Gärung geben würde, war von vornherein anzunehmen, und tatsächlich konnte ich bei 0,000001 ccm noch stets das Phänomen beobachten. Aber auch das Rieselwasser, das hereits in den Rieselfeldern filtriert ist, enthält noch bei 0,0001 ccm regelmäfsig Kolibakterien. Ebenso geben 0,001 ccm Spreewasser und 0,0002 ccm Wasser der Panke stets einen positiven Ausfall der Probe. Bei gröfseren Verdünnungen trat auch wohl noch hier und da Gärung auf, doch nicht mehr regelmäfsig.

Unsere einwandsfreien Wässer dagegen, das Berliner Leitungswasser und mehrere gute Brunnen, gaben niemals 46° Gärung auch bei Verwendung gröfserer Mengen (bis 100 ccm und darüber). Ich glaubte hierbei im allgemeinen von der Verwendung gröfserer Versuchsmengen als 100 ccm absehen zu dürfen, da dieselbe tatsächlich überflüssig ist. Ich bin sogar der Ansicht, dafs für den praktischen Zweck ein Versuch mit 10—20 ccm vollständig ausreichen würde, einmal deswegen, weil ich niemals gesehen habe, dafs in einer gröfseren Zahl von Kubikzentimetern noch Koliwachstum aufgetreten wäre, wenn in 1 ccm keines mehr zu konstatieren war, und anderseits, weil obenerwähnte Untersuchung von Clark und M'Gage gezeigt hat, dafs mit dem

Verschwinden der Kolibakterien aus 1 ccm Wasser — festgestellt durch gewöhnliche Plattenuntersuchung — die Verunreinigung aufgehört hatte. Das Bacterium coli entwickelt eben auch bei niederer Temperatur und mäfsigen Nahrungsbedingungen noch so viel Wachstumsenergie, dafs es in 1 ccm Wasser gefunden werden mufs, wenn es nur in der den geringsten Grad der Verunreinigung anzeigenden Menge vorhanden ist. Die 100fache Menge scheint mir Sicherheit genug zu verbürgen, und die Methode hat sich als fein genug erwiesen, um jeden einzelnen Kolibazillus abzufangen. Die Verwendung gröfserer Quantitäten würde einen gröfseren Apparat erfordern, während man ca. 100 ccm nach Eijkmanns Methode mit Pepton, Traubenzucker und Kochsalz versetzt und auf ca. 10 Gärungskölbchen verteilt.

Beim positiven Ausfall des Versuchs fand ich stets nach 24 Stunden diffuse Trübung des gesamten Kolbeninhalts und meist reichliche Gasbildung. Nur sehr selten war die Gasbildung so gering, dafs eine Verwechslung mit der Luftblase, welche von im Wasser absorbiert gewesenen Gasen stammt, möglich gewesen wäre; doch löste eine zuckerlose Kontrolle stets etwaigen Zweifel. In den bei weitem meisten Fällen fanden sich im hängenden Tropfen mehr oder weniger schlecht bewegliche Stäbchen, die die Charakteristica des Bacterium coli zeigten. Mitunter fanden sich auch einzelne wenige Diplo-, Strepto- und Staphylokokken. Beim Ausstrich auf Agarplatten wurden mäfsig viel Koli-Kolonien, mitunter einige Staphylokokken-Kolonien gefunden. Ein grofser Teil der Kolibakterien sowie manche Kokkenarten scheinen durch die Säurebildung vergiftet zu werden, wie dies Smith[12] sowohl für Kolibazillen als auch Staphylokokken als möglich nachgewiesen hat. Einen Buttersäurebazillus habe ich niemals gefunden.

Bei negativem Ausfall bleibt die Flüssigkeit fast immer steril; mitunter bildet sich nach 2 Tagen eine geringe Trübung im offenen Schenkel des Gärungskölbchens, meist mit Kamhautbildung; man findet dann gröfstenteils Heubazillen, mitunter ein paar Kokkenarten.

Um auch zweifelhafte Wässer zu prüfen, wählte ich einige Brunnen in der Stadt, vor denen die Polizei durch die Aufschrift »Kein Trinkwasser« warnt. Aus welchem Grunde diese Brunnen im einzelnen eine solche Aufschrift nötig gemacht haben, konnte ich noch nicht feststellen; wahrscheinlich ist dies aber geschehen, weil ihr Wasser nicht sehr rein im physikalischen Sinne ist; es zeigt etwas Bodensatz und eine gelbliche Trübung, ohne einen unangenehmen Geruch oder Geschmack zu besitzen. Alle diese Wässer zeigten bei mehrfacher Untersuchung zu verschiedenen Zeiten niemals 46° Gärung, besonders auch nicht nach einem wolkenbruchartigen Regen und an einem Regentage. Dagegen zeigten 2 dieser Wässer bei niederer Temperatur starke Gärung.

Es ist dies dieselbe Beobachtung, die Eijkmann bei einer grofsen Anzahl tatsächlich unverdächtiger Wassersorten, z. B. in sterilem Fafs aufgefangenem Regenwasser, gemacht hat, dafs nämlich dieselben bei Zimmer- oder gewöhnlicher Bruttemperatur (37°) Gärung geben, welche von Bakterien der weiteren Koligruppe herrührt.

Wenn hier jemand einwenden wollte, auch diese Bakterien, die bei 37° noch wachsen, bei 46° aber nicht mehr, seien wertvoll als Anzeichen gefahrdrohender Verunreinigung, so mufs dem widersprochen werden. Die im hiesigen Institut vorhandenen Kolistämme, sowie eine Anzahl besonders aus Fäces von Erwachsenen, Kindern, Kaninchen, Meerschweinchen, Kanarienvögeln etc. isolierten Stämme gaben sämtlich 46° Gärung. Es scheint also, dafs sämtliche Mikroben der Koligruppe, die aus dem Warmblüterorganismus stammen, bei 46° noch ausgezeichnet gedeihen können, während z. B. die vom Frosch stammenden Darmbakterien bei 37° noch Traubenzucker vergären, bei 46° aber nicht. Auch die des Fisches scheinen, wie Eijkmann unter Zitierung einer Inauguraldissertation[13]) erwähnt, bei höherer Temperatur nicht mehr kultivierbar zu sein. Von sonstigen Bakterien, die eine Täuschung durch Vergärung bei 46° hervorrufen könnten, kommt wohl keiner, auch der gewöhnliche Buttersäurebazillus nicht, in Betracht, da dieser in Zuckerbouillon erst

nach 2 Tagen ganz spärlich im geschlossenen Schenkel zu wachsen anfängt, wenn er überhaupt angeht. Ihn kann man ausschalten, wenn man die Probe nur auf 24 Stunden ausdehnt, was nach meiner Erfahrung vollständig ausreicht.

Versuche mit Vergärung des Milchzuckers bei sonst gleicher Versuchsanordnung haben dasselbe Resultat wie Glykosegärung gegeben, einen Vorteil eines der beiden Verfahren habe ich nicht feststellen können.

Es besteht m. E. ein Vorzug der Gärungsprobe bei 46° darin, dafs sie Verunreinigungen durch Kaltblüterfäces nicht anzeigt. Man kann ein Wasser nicht immer vom Genufs ausschliefsen, blofs weil Fische oder Frösche sich in ihm aufhalten. Wer einen höheren Grad der Reinheit verlangt, kann ja weitere Untersuchungen anstellen, jedenfalls wird er vorher zu konstatieren vermögen, dafs eine direkte Gefahr durch den Genufs nicht besteht.

Meinem hochverehrten Chef, Herrn Geheimrat Rubner, erlaube ich mir für die Anregung zu der Arbeit und sein Interesse an derselben meinen gehorsamsten Dank zu sagen.

## Literatur.

1. Clark und M'Gage, Ref. Centralbl. f. Bakteriol., 1900.
2. Kruse, Zeitschrift f. Hygiene u. Infektionskrankh., XVII.
3. Weifsenfeld, Zeitschrift f. Hygiene u. Infektionskrankh., XXXV.
4. v. Freudenreich, Centralbl. f. Bakteriol. u. Parasitenk., XVIII.
5. Schardinger, Centralbl. f. Bakteriol., XVI.
6. Ahbe, Centralbl. f. Bakteriol., XIX.
7. Houston, 2nd Report of the Royal Comm. on sewage disposal (Wyman et Sons, London 1902), zitiert nach Eijkmann.
8. Petruschky und Pusch, Zeitschrift f. Hygiene, XLIII.
9. Levy und Bruns, Archiv f. Hygiene, XXXVI.
10. Eijkmann, Centralbl. f. Bakteriol., XXXVII.
11. Rodet, Compt. rend. Acad. soc. de biologie. Ref. Centralbl. f. Bakt., VI.
12. Smith, Centralbl. f. Bakteriol., XVIII.

# Sind bei der bakteriziden Wirkung des Blutserums osmotische Vorgänge im Spiele?

Von

Dr. **Georg Leuchs.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität München. Vorstand: Prof. Max Gruber.)

Gegen die Lehre, dafs die bakterizide Wirkung des Blutserums auf die Anwesenheit besonderer bakterienfeindlicher Stoffe, der Alexine, zurückzuführen sei, wurde seinerzeit der Einwand erhoben, dafs der schroffe Wechsel des Mediums bei der Übertragung der Bakterien von dem künstlichen Nährboden in das Serum eine Schädlichkeit sei, die für sich allein völlig genüge, den Tod der Keime herbeizuführen. Einerseits der Hunger, andrerseits osmotische Vorgänge seien die Ursachen ihres Absterbens.

Dieser Einwand ist durch die Untersuchungen von Buchner, Trommsdorff, Hegeler und v. Lingelsheim widerlegt worden. Die Verschiedenheit des osmotischen Druckes von Nährboden und Serum wie der Hunger spielen keine Rolle bei der Abtötung der Bakterien durch frisches Serum; die Annahme besonderer, leicht zerstörbarer bakterizider Substanzen im frischen Blutserum ist unvermeidlich.

Dagegen schien doch manches darauf hinzudeuten, dafs bei der Abtötung der Bakterien durch frisches Immunserum osmotische Vorgänge im Spiele seien. Die osmotische Hüllschichte der Keime, welche in normalem Zustande als semipermeable Membran angesehen werden mufs, konnte möglicherweise durch die Präparatoren (Amboceptoren) der Immunsera

derartig verändert werden, dafs sie nun nicht mehr blofs Wasser, sondern auch andere wasserlösliche Substanzen durchtreten liefse und so einerseits dem Alexin den Eintritt erleichterte, andrerseits den Austritt von Salzen und anderen lebenswichtigen Substanzen aus dem Innern der Zelle ermöglichte, was den Tod der Bakterien zur Folge hätte. Gruber, der diese Ansicht verfocht, führte dafür ins Feld, dafs die Vorgänge der Bakteriolyse, wie man sie z. B. beim Pfeifferschen Versuch beobachten kann, entschiedene Ähnlichkeit zeigen mit den Veränderungen der Zellen bei Störungen der normalen Osmose, dafs ferner bei der der Bakteriolyse analogen Hämolyse nichts anderes zu konstatieren sei als Diffusion des Hämoglobins aus dem Stroma der Blutscheiben in die umgehende Flüssigkeit unter Zurücklassung der »Schatten«.

Auf die Richtigkeit dieser Ansicht liefs sich die Probe machen: wenn die Immunkörper die Beschaffenheit der osmotischen Membran verändern, so mufsten die damit behandelten Zellen sich gegen Änderungen des osmotischen Druckes in ihrem Medium anders verhalten als die normalen. Auf Veranlassung von Herrn Prof. Gruber habe ich daher zur selben Zeit, als Röfsle seine in der »Münchner mediz. Wochenschrift«, Jahrg. 1904, Nr. 42, veröffentlichten Untersuchungen über das osmotische Verhalten der mit Immunkörpern behandelten Erythrocyten begann, Versuche über den Einflufs der Immunkörper auf die Abtötung der Bakterien durch destilliertes Wasser begonnen. Über einen Teil der Resultate dieser Versuche habe ich bereits in der Sitzung der Gesellschaft für Morphologie und Physiologie in München, am 22. November 1904, berichtet. Es sei gestattet, das Wichtigste aus meinen Versuchsprotokollen hier anzuführen.

Bevor das Verhalten der mit Immunserum vorbehandelten Bakterien gegen destilliertes Wasser untersucht werden konnte, mufste die Widerstandsfähigkeit der normalen Bakterien ermittelt werden. Da sich die gewöhnlichen Typhusbakterien als sehr resistent gegen destilliertes Wasser erwiesen (selbst bei schwachen Einsaaten war das infizierte Wasser nach einem

Monat noch nicht steril), so wurden die Versuche mit Vibrio Danubicus angestellt. Dabei zeigte sich, dafs bei der Übertragung der Keime aus einer 20—24stündigen Agarkultur (Agar mit dem gebräuchlichen Zusatz von 0,5% Kochsalz) in destilliertes Wasser schon binnen 5 Minuten Massentod eintritt. 90 bis 95% der eingesäten Keime gehen fast sofort zugrunde und nur 5—10% überleben. Auch 0,3 und 0,66proz. Kochsalzlösungen schädigen die Danubicuskeime in hohem Mafse. Auch in diesen Lösungen sterben etwa 50% der eingesäten Keime binnen 5 Minuten. Ich will nur einen einschlägigen Versuch mit allen Einzelheiten mitteilen:

Von einer 24stündigen Agarkultur wurden 4 Ösen, deren Füllung durch Wägung des Agarröhrchens vor und nach der Entnahme der Öse festgestellt wurde, entnommen und in 50 ccm destilliertes Wasser, bzw. 0,3proz. Kochsalzlösung, 0,66proz. Kochsalzlösung, Bouillon verteilt. (Die Ösen wurden vom Rande des Bakterienbelags entnommen, da anzunehmen ist, dafs im Innern desselben sehr viele tote Keime vorhanden sind. Das Agarröhrchen wurde in abgekühltem Zustand, mit einer Kautschukkappe bedeckt, gewogen.) Aus diesen Aufschwemmungen wurde, ohne dafs sie filtriert worden wären, sofort (d. h. nach weniger als 5 Minuten) 1 ccm übertragen in ein mit 50 ccm Peptonwasser (0,5% Kochsalz + 0,1% Pepton, s. u.) gefülltes Verdünnungstropfgläschen[1]), von welchem aus einerseits je 1 Tropfen ausgesät wurde auf 3 Gelatineplatten (»grofse Aussaat«), andrerseits 4 Tropfen gegeben wurden in ein zweites, 50 ccm Peptonwasser enthaltendes Verdünnungstropfgläschen, von dem aus je 5 Tropfen auf 3 Gelatineplatten ausgesät wurden (»kleine Aussaat«). Die Platten der grofsen Aussaat wurden mikroskopisch (16 oder 32 Gesichtsfelder), die der kleinen Aussaat wurden direkt gezählt. Dafs die Berechnung hier, wie bei den späteren Versuchen, für die grofse Aussaat in der Regel eine geringere

1) Nach Fickers Vorgang (Zeitschr. f. Hyg., Bd. 29) benutzte ich, um genau gleich grofse Quantitäten entnehmen zu können, Tropfgläschen. Die Tropfengröfse jedes einzelnen Tropfgläschens für die benutzten Lösungen (dest. Wasser, Peptonwasser, Bouillon, Kochsalzlösung) bestimmte ich durch wiederholtes Zählen der Tropfen, welche notwendig waren, um 10 ccm zu füllen.

Keimzahl ergibt als für die kleine, erklärt sich ohne weiteres daraus, dafs in einer direkt besäten Platte viele Kolonien aus zwei oder mehr Keimen entstehen.

| | Kolonienzahl, Mittelwert aus je 3 Platten | | Keimzahl auf 1 mg Kultur berechnet aus der | |
|---|---|---|---|---|
| | grofse Aussaat | kleine Aussaat | grofsen Aussaat | kleinen Aussaat |
| Bouillon . . . . . | 24 600 | 933 | 180 000 000 | 290 000 000 |
| 0,66 proz. Kochsalz . | 12 311 | 722 | 68 000 000 | 147 000 000 |
| 0,3 proz. Kochsalz . . | 14 711 | 466 | 96 000 000 | 127 000 000 |
| Destill. Wasser . . . | 2 942 | 81 | 13 400 000 | 14 500 000 |

Jene Keime, welche den ersten Ansturm überstanden haben, halten dann viel länger lebend aus. Es ist sehr wahrscheinlich, dafs dies zum Teil darin begründet ist, dafs sie durch die in Lösung gegangenen Leibesbestandteile ihrer unglücklicheren Brüder eine gewisse Stärkung oder Schutz erhalten. Wenigstens ist es sehr auffallend, wie grofs der Einflufs ist, welchen die Zahl der eingesäten Bakterien auf die Schnelligkeit des Absterbens besitzt: Bringt man viele Bakterien in die schädigende Flüssigkeit, so erfolgt das Absterben der Keime verhältnismäfsig viel langsamer, als wenn man nur wenige Bakterien einsät, eine Tatsache, die bereits von zahlreichen Forschern konstatiert worden ist. Zur Bestätigung des eben Gesagten sei daher nur ein Beispiel angeführt:

Ich schwemmte 5 Osen einer 20stündigen Agarkultur von Vibrio Danubicus in 5 ccm destilliertem Wasser auf, filtrierte die Aufschwemmung durch ein Leinwandfilter und stellte nun wie bei der Agglutinationsprobe fünf verschiedene Verdünnungen derart her, dafs je 1 ccm der verschiedenen Probeflüssigkeiten den 40., 1600., 64000., 2560000., 102400000. Teil einer Kulturöse enthielt. Hiervon entnahm ich von Zeit zu Zeit Proben und zwar, um zählbare (Gelatine-) Platten zu bekommen, von dem letzten Tropfgläschen 12 Tropfen, von dem 3. und 4. 1 Tropfen und von den ersten beiden $^1/_{500}$ Tropfen, d. h. ich verdünnte den entnommenen Tropfen mit physiol. Kochsalz-

lösung auf das 500fache und brachte erst von dieser Flüssigkeit 1 Tropfen in die Gelatine.

a) Kolonienzahl (Mittelwert aus je zwei Platten):

| Grad der Verdünnung der Öse | 40 | 1 600 | 64 000 | 2 560 000 | 102 400 000 |
|---|---|---|---|---|---|
| Aussaat in die Gelatine, Tropfen: | 1/500 | 1/500 | 1 | 1 | 12 |
| Nach weniger als 5 Min. | 5 900 | 100 | 780 | 16 | 9 |
| » 1 Stunde . . . . | 2 350 | 45 | 5 | 1 | 2 |
| » 3½ Stunden . . . | 2 950 | 17 | 0 | 0 | 0 |
| » 1 Tag . . . . . | 12 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| » 2 Tagen . . . . | 23 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| » 17 » (12 Tropfen!) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

b) Berechnung: 1 ccm der Probeflüssigkeit enthielt Keime:

| Grad der Verdünnung der Öse | 40 | 1 600 | 64 000 | 2 560 000 | 102 400 000 |
|---|---|---|---|---|---|
| Nach weniger als 5 Min. | 33 000 000 | 570 000 | 8 970 | 189 | 9 |
| Nach 1 Stunde . . . . | 13 200 000 | 252 000 | 58 | 12 | 2 |
| » 3½ Stunden . . . | 16 500 000 | 95 200 | 0 | 0 | 0 |
| » 1 Tag . . . . | 67 200 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| » 2 Tagen . . . . | 128 800 | 5 700 | 0 | 0 | 0 |
| » 17 » . . . . | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Es ist also wohl zu beachten, dafs nach dem Mitgeteilten die folgenden Versuche über den Einflufs der Immunkörper nur an den widerstandsfähigeren Individuen der verwendeten Kulturen angestellt werden konnten.

Nachdem ich mich durch den Versuch überzeugt hatte, dafs die von mir verwendeten Sera (inaktiviertes Meerschweinchen-Immunserum und -Normalserum) in 1proz. Verdünnung die Vermehrung der Keime in gleicher Weise beeinflufsten, ging ich dazu über, mittels der Plattenmethode zu prüfen, ob mit Immunkörper beladene Bakterien in destilliertem Wasser schneller zugrunde gehen als solche, welche nur mit inaktiviertem Normalserum oder gar nicht vorbehandelt waren.

Von einer 22stündigen Agarkultur von Vibrio Danubicus wurden 4 Ösen = 12,8 mg entnommen, und in 200 ccm 0,3proz. Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Von dieser Aufschwemmung

wurden 49,5 ccm versetzt mit 0,5 ccm Meerschweinchen-Immunserum, welches bei Verdünnung 1 : 320 noch deutliche Agglutination zeigte, ferner 49,5 ccm mit 0,5 ccm inaktiviertem Meerschweinchen-Normalserum. Diese Mischungen nebst 50 ccm der Originalaufschwemmung kamen für 1 Stunde in den Eisschrank, um die vollständige Bindung der Immunkörper herbeizuführen. Darauf wurde von den drei Flüssigkeiten nach kräftigem Schütteln je $^1/_2$ ccm entnommen und in Tropfgläschen gebracht, welche mit 49,5 ccm destilliertem Wasser gefüllt waren. Aus diesen wurde nun sofort und später nach bestimmten Zeiten je ein Tropfen entnommen und in Gelatine gebracht (»grofse Aussaat«), ferner wurden vier Tropfen gegeben in ein mit 50 ccm Pepton-Kochsalzlösung gefülltes Verdünnungstropfgläschen, aus diesem wieder je fünf Tropfen in drei Gelatineröhrchen (»kleine Aussaat«). Natürlich wurde vor jeder Entnahme von Tropfen geschüttelt, um gleichmäfsige Verteilung der Keime zu bewirken. (Als Verdünnungsflüssigkeit für die dem destillierten Wasser entnommenen Proben wurde hier wie später eine Lösung von 0,1 proz. Pepton und 0,3 proz. Kochsalz in Wasser benutzt, eine Flüssigkeit, welche höchstens nur eine ganz langsame Vermehrung der eingesäten Danubicuskeime zulassen dürfte, und welche anderseits, wie ich vorher durch einen besonderen Versuch festgestellt hatte, diesen Keimen bei kurzer Einwirkungsdauer nicht schädlich ist.) Das Resultat, berechnet auf 1 ccm des destillierten Wassers, war folgendes:

1 ccm des destillierten Wassers enthielt Keime:

| | Berechnet aus der kleinen Aussaat | | | Berechnet aus der grofsen Aussaat | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Immun-serum | Normal-serum | Kochsalz-lösung | Immun-serum | Normal-serum | Kochsalz-lösung |
| Sogleich . . . | 136 000 | 115 000 | 111 000 | 88 400 | 93 800 | 68 300 |
| Nach 1 Stunde | 78 000 | 91 000 | 62 000 | 60 300 | 56 300 | 39 000 |
| » $3^1/_2$ Std. | 47 000 | 64 000 | 23 000 | 52 300 | — | 32 500 |
| » 1 Tag . | 10 900 | 2 180 | 227 | 7 300 | 1 500 | 39 |
| » 3 Tagen . | — | — | — | 2 350 | 0 | 0 |
| » 6 » . | — | — | — | 94 | 0 | 0 |
| » 8 » . | — | — | — | 4 | — | — |

Die mit Normalserum vorbehandelten Bakterien starben also im destillierten Wasser nahezu ebenso schnell ab wie die nur mit 0,3% Kochsalz vorbehandelten. Die geringe Differenz in der Resistenz erklärt sich wohl aus dem Umstande, dafs mit den mit Serum vorbehandelten Bakterien gleichzeitig eine geringe Menge (0,005 ccm) Normalserums in das destillierte Wasser eingetragen wurde, so dafs das Wasser eigentlich eine 0,01 proz. Serumlösung darstellte. Dagegen starben die mit Immunserum vorbehandelten Bakterien deutlich langsamer ab als die mit Normalserum vorbehandelten. Dies mufs jedoch nicht auf einer tatsächlichen gröfseren Resistenz der ersteren beruhen, sondern kann vorgetäuscht sein durch Agglutination, indem die in Agglutinationshäufchen eingeschlossenen Bakterien lange Zeit vor dem destillierten Wasser geschützt sein könnten. Gegen letzteres spricht nicht, dafs nach Bordet die Agglutinationshäufchen im destillierten Wasser durch Schütteln zerfallen, denn es handelt sich hier, wie eben erwähnt, eigentlich nicht um destilliertes Wasser, sondern um eine 0,01 proz. Serumlösung. Wohl aber spräche dagegen der Umstand, dafs die Kolonienzahlen der Kontrollplatten bei der »kleinen Aussaat« sehr gut zusammenstimmen.

Es wurde nun der Versuch wiederholt mit der Modifikation, dafs nach erfolgter Bindung der Immunkörper das Serum durch mehrmaliges Waschen der Bakterien mit 0,3 proz. Kochsalzlösung entfernt wurde, um den Einflufs der Nährstoffe des Serums möglichst auszuschalten. Um die Vermehrung der Keime während des Zentrifugierens zu verhindern, wurde mit Eiskühlung zentrifugiert. Ferner wurde die Serumwirkung verstärkt, indem eine Serumverdünnung von 1 : 15 gewählt wurde. Um den durch das Waschen entstehenden Keimverlust auszugleichen, wurde eine gröfsere Aussaat gemacht.

(Siehe die Tabelle auf S. 403)

Wie die Tabelle zeigt, sind die Differenzen in der Keimzahl von Anfang an so grofs gewesen, dafs bestimmte Schlüsse unzulässig wären. Da sich herausstellte, dafs die wesentlich schlechter abzuzentrifugierenden Normalserumbakterien beim Waschen zum gröfsten Teil weggeschüttet werden, so blieb nichts übrig, als

Keimzahl pro 1 ccm dest. Wassers (Mittelwerte, berechnet aus grofser und kleiner Aussaat):

| | Immun-serum | Normal-serum | 0,3 % Kochsalz |
|---|---|---|---|
| Zahl der in das destill. Wasser eingetragenen Bakterien pro 1 ccm desselben . . . . | 650 000 | 19 000 | 1 000 000 |
| Nach 2—5 Minuten . . . . . | 486 000 | 2 000 | 776 000 |
| » 1 Stunde . . . . . | 450 000 | 1 500 | 691 000 |
| » 3 Stunden . . . . . | 300 000 | 270 | 227 000 |
| » 6 » . . . . . | 435 000 | 189 | 209 000 |
| » 1 Tag . . . . . | 57 000 | 12 | 22 000 |
| » 2 Tagen . . . . . | 5 100 | 0 | 1 500 |
| » 3 » . . . . . | 4 100 | 0 | 339 |
| » 4 » . . . . . | 925 | — | 83 |

von vornherein eine bedeutend gröfsere Menge von Bakterien für die Normalserumprüfung zu verwenden, sowie gründlicher zu zentrifugieren. Dies ist im folgenden Versuch geschehen.

Von einer 22stündigen Danubicusagarkultur wurden aufgeschwemmt:

1 Öse in 7,0 ccm einer 0,3proz. Kochsalzlösung + $^1/_2$ ccm Immunserum
5 Ösen » 7,0 » » » » + $^1/_2$ » inakt. Normals.
1 Öse » 7,5 » » » »

Diese Aufschwemmungen kamen auf 1 Stunde in den Eisschrank, worauf die beiden Serumaufschwemmungen $^1/_2$ Stunde mit Eiskühlung zentrifugiert wurden. Nun wurde die Flüssigkeit vollständig abgegossen, das Sediment aufgerührt, 7 ccm 0,3proz. Kochsalzlösung zugegeben und mit dem Sediment verrührt. Nach weiterem $^1/_4$stündigem Zentrifugieren wurde zum Bodensatz soviel 0,3proz. Kochsalzlösung gegeben, dafs die Trübung in beiden Gläschen ungefähr gleich stark schien, d. h zu den Immunserumbakterien 10 ccm, zu den Normalserumbakterien 2 ccm. Um gröfsere Agglutinationshäufchen zu entfernen, wurden beide Proben durch ein Leinwandfilter filtriert in Tropfgläschen, hier stark geschüttelt, und nun wurden von allen drei Aufschwemmungen (die reine Kochsalzaufschwemmung war unterdessen im Eisschrank gestanden) 7 Tropfen = $^1/_2$ ccm in 50 ccm destilliertes Wasser gebracht. Von diesem wurde von Zeit zu Zeit je 1 Tropfen direkt in zwei Gelatineröhrchen übertragen (»grofse Aussaat«),

andrerseits 4 Tropfen in 50 ccm Peptonwasser und hieraus je 5 Tropfen in 2 Gelatineröhrchen (»kleine Aussaat«). Von der Abnahme der Kultur bis zum ersten Plattenguſs vergingen $2^1/_2$ Stunden. Um den Keimgehalt der Aufschwemmungen im Moment der Mischung mit dem destillierten Wasser zu bestimmen, wurden gleichgroſse Proben statt in letzteres in Peptonwasser gegeben und in ganz entsprechender Weise zu Platten verarbeitet.

Keimzahl pro 1 ccm des destillierten Wassers:

| | Berechnet aus der kleinen Aussaat | | | Berechnet aus der groſsen Aussaat | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Immunserum | Normalserum | 0,3 % Kochsalz | Immunserum | Normalserum | 0,3 % Kochsalz |
| Im Moment der Eintragung . | 56 000 | 580 000 | 2 080 000 | 40 000 | 242 000 | unzählbar |
| Sogleich darnach | 77 000 | 416 000 | 718 000 | 62 000 | 122 000 | unzählbar |
| Nach 1 Stunde | 72 000 | 229 000 | 693 000 | 61 000 | 115 000 | 258 000 |
| » $3^1/_2$ Std. . | 17 600 | 210 | 12 600 | 22 300 | 72 | 10 600 |
| » 6 » . | 225 | 0 | 0 | 864 | 6 | 84 |
| » 1 Tag . | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| » 2 Tagen . | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| » 3 » . | — | — | — | 0 | 0 | 0 |

Obwohl also hier von den Immunserumbakterien zehnmal weniger in das Wasser eingetragen wurden als von den Normalserumbakterien und 40mal weniger als von den unvorbehandelten Bakterien, so erfolgte doch die Abnahme der Keimzahl bei ersteren langsamer als bei den beiden letzteren. Dies muſs jedoch keineswegs als Beweis für eine gröſsere Resistenz der Immunserumbakterien angesehen werden. Der Einfluſs der Nährstoffe ist zwar durch das Waschen ausgeschaltet, wie ja auch das gleiche Verhalten der Normalserum- und der unvorbehandelten Bakterien beweist; dagegen sprechen mehrere Momente dafür, daſs die langsamere Abtötung der Immunserumbakterien doch auf die schützende Wirkung kleiner Agglutinationshäufchen zurückzuführen ist:

Vergleicht man nämlich diesen Versuch mit dem vorhergehenden, so findet man, daſs im einen Falle, wo filtriert wurde, also gröſsere Agglutinationshäufchen zurückgehalten wurden, schon nach einem Tage in sämtlichen Proben Sterilität eingetreten war; im anderen Falle dagegen wurde nicht filtriert, hier waren noch

nach vier Tagen viele Immunserumkeime entwicklungsfähig. Aufser der Filtration aber hot die Ausführung heider Versuche keine prinzipiellen Unterschiede. Sind somit gröfsere Agglutinationshäufchen imstande, die in ihrem Innern liegenden Bakterien tagelang vor der tötenden Wirkung des destillierten Wassers zu hewahren, so darf angenommen werden, dafs auch kleinere Häufchen, welche noch durch ein Leinwandfilter hindurchgehen, eine gewisse schützende Wirkung ausühen können, wenn auch nur für einige Stunden.

Dafs tatsächlich in der Immunserumaufschwemmung auch nach der Filtration noch kleine Agglutinationshäufchen vorhanden waren, und dafs sich diese teilweise nach dem Einhringen in das Wasser wieder auflösten, dafür scheinen die heiden ersten Zahlenreihen der Tahelle zu sprechen: Bei den Normalserum- und den unvorbehandelten Bakterien ist sofort nach der Eintragung in das destillierte Wasser eine Abnahme der Keimzahl zu beobachten (von 580000 auf 416000 und von 2000000 auf 718000), worin sich die rapid einsetzende deletäre Wirkung des Wassers dokumentiert. Bei den Immunserumbakterien aber tritt sogar eine Steigerung der Keimzahl ein, welche sich wohl nur dadurch erklären läfst, dafs ein Teil der Agglutinationshäufchen sich aufgelöst hat und zahlreiche Keime frei geworden sind.

Ist somit die scheinhar gröfsere Resistenz der mit Immunserum vorhehandelten Bakterien wohl nur auf den störenden Einflufs der Agglutination zurückzuführen, so geht aus den Zahlen der Tahelle doch auch soviel hervor, dafs die Widerstandsfähigkeit dieser Bakterien gegen destilliertes Wasser keineswegs vermindert ist.

Das Ergehnis meiner Versuche ist somit ein negatives. Es liefs sich keine gröfsere Hinfälligkeit der mit Immunkörpern präparierten Danubicuskeime gegen osmotische Schädlichkeiten erweisen. Der Gedanke, dafs Veränderungen in den osmotischen Verhältnissen das Entscheidende bei der Bakterizidie seien, mufs also wohl fallen gelassen werden, wenn auch zugegeben werden mufs, dafs die Umstände der Agglutination und des raschen Massentodes der empfindlichen Keime hei der Übertragung der Kultur in die Aufschwemmungsmedien für meine Versuche recht störend waren.

Röfsles Versuche an Erythrozyten haben bekanntlich für diese das gleiche Resultat ergeben, dafs ihr osmotischer Zustand durch die Immunkörper nicht merklich verändert wird.

---

Ich untersuchte auch mikroskopisch, ob mit Immunkörpern beladene Bakterien in bezug auf Plasmolyse sich anders verhalten als unvorbehandelte Bakterien. Verwendet wurden hierzu: Bacterium typhi, pyocyaneum und megatherium. Ich konnte irgendeinen Unterschied in bezug auf den Eintritt und die Dauer der Plasmolyse nicht beobachten, stiefs jedoch sehr bald auf jene Erscheinung, die Alfred Fischer[1]) entdeckt und als »Plasmoptyse« bezeichnet hat.

Fischer beobachtete nach gewissen Vorbereitungen im hängenden Tropfen aufserhalb der Bakterienleiber eigentümliche kugelartige Gebilde, stärker lichtbrechend als die Flüssigkeit des Tropfens, im Inneren vollkommen homogen, von wechselnder Gröfse, den Querdurchmesser der Bakterien meist weit übertreffend. Ihr Kontur ist deutlich, aber zart, ihre Form ist nicht immer kreisrund, sondern manchmal oval, birnförmig oder ganz unregelmäfsig. Oft liegen die Kugeln der Seite der Bakterien an. Sie finden sich in der Regel nicht von Anfang an im Hängetropfen vor, sondern entstehen erst im Laufe von Minuten und Stunden.

Fischer fafste die Kugeln auf als Plasmateile der Bakterien, welche von diesen ausgestofsen, ausgespieen sein sollten. Er nannte den Vorgang des Ausspeiens Plasmoptyse und erklärte ihn auf folgende Weise:

Werden Bakterien in 2proz. Kochsalzlösung gebracht, so tritt infolge Steigerung des osmotischen Aufsendruckes Plasmolyse ein, d. h. man beobachtet das Auftreten von stärker lichtbrechenden und stärker färbbaren Kügelchen, Bändern oder Klümpchen innerhalb der Bakterienmembran. Um die Plasmolyse der Bakterien zu verstehen, hat man sich nach Fischer die Bakterienzelle ebenso gebaut vorzustellen, wie die Zelle der höheren Pflanzen, also ausgestattet mit einer Membran, dem Zellsaft und dem Protoplasma, welches letztere einen dünnen,

1) Zeitschrift f. Hygiene, 35. Bd.

den Zellsaft einschliefsenden Wandbelag bildet. Für Wasser sind die Membran und das Protoplasma leicht durchgängig, für gelöste Stoffe, z. B. Salzmoleküle jedoch nur die Membran, während der Protoplasmaschlauch mehr oder minder undurchgängig ist (wenigstens bei den »plasmolysierbaren Bakterien«), das Protoplasma ist also, wie der terminus technicus lautet, eine semipermeable Membran. Solange die umgebende Flüssigkeit weniger osmotisch wirksame Stoffe enthält als der Zellsaft, ist daher im Innern der Zelle ein Überdruck vorhanden, welcher den Turgor der Zelle aufrechterhält. Dieser Überdruck hört aber auf, sobald die umgebende Flüssigkeit eine stärkere Konzentration an osmotisch wirksamen Substanzen enthält als der Zellsaft. Jetzt drücken vielmehr die Salzmoleküle von aufsen auf den für sie undurchgängigen Protoplasmaschlauch, es wird Wasser ausgepreſst, das Protoplasma wird entspannt, löst sich teilweise von der Zellmembran ab und zieht sich zusammen, es tritt Plasmolyse ein.

Mit der Zeit aber dringt doch soviel Salz durch die Protoplasmahülle in den Zellsaft ein, dafs der Innendruck den Aufsendruck mehr oder minder kompensiert. Führt man nun diese salzbeladenen und durch Hunger geschwächten Bakterien in eine weniger konzentrierte Lösung, z. B. in Leitungswasser über, so sollte man erwarten, dafs nun das Salz aus der Bakterienzelle wieder austritt, bis der Salzgehalt der Zelle und der dieselbe umspülenden Flüssigkeit gleich ist. Dies geschieht jedoch nicht, da infolge einer den Bakterien überhaupt anhaftenden oder erst im Laufe des Versuches erworbenen Eigenschaft das Salz viel langsamer exosmiert als es endosmiert ist; es bleibt vielmehr der osmotische Innendruck bestehen, während der Aufsendruck plötzlich rapid sinkt, die Membran ist dieser gewaltigen Druckdifferenz auf die Dauer nicht gewachsen, sie reifst an ihrer nachgiebigsten Stelle, in der Regel dem Pol des Bakteriums, ein; durch den Rifs wird ein Teil des Protoplasmas hervorgepreſst, der sich nun in Form einer Kugel, die bald gröfser und matter wird, dem Bakterienpol anlegt, — es tritt Plasmoptyse ein.

Soweit wäre ja die Theorie der Plasmoptyse annehmbar. Die Entstehung dieser Kugeln beobachtete aber Fischer nicht

nur unter den angegebenen Bedingungen, sondern auch unter gerade entgegengesetzten Verhältnissen, d. h. wenn Bakterien von einem 0,15% NaCl enthaltenden Medium in 0,75proz. oder in 2proz. Kochsalzlösung oder in eine der letzteren isotonische Flüssigkeit, z. B. 5% Glyzerin übertragen werden. Die Erklärung, welche Fischer für diese, wie er selbst sagt, scheinbar allen osmotischen Gesetzen widersprechende Erscheinung gibt, ist zu kompliziert und zu wenig verständlich, als dafs ich sie hier wiedergeben könnte.

Fischer verwertete die Plasmoptyse hauptsächlich gegen die Alexinlehre. Beim Pfeifferschen Phänomen tritt bekanntlich durch die Wirkung des aktiven Immunserums ein Aufquellen des Bakteriums und schliefslich Umwandlung seiner Protoplasmamasse in eine kleine Kugel ein, welche allmählich abblafst und verschwindet. Fischer hielt diese Kügelchen für identisch mit seinen Plasmoptysekugeln und glaubte infolgedessen auch für die einfache Alexinwirkung die Plasmoptyse als Ursache ansprechen zu müssen.

Durch die früher genannten Forscher ist bereits erwiesen worden, dafs das Pfeiffersche Phänomen keinesfalls mit der Plasmoptyse Fischers identifiziert werden könne; bei meinen Kontrolluntersuchungen stellte sich weiter die überraschende Tatsache heraus, dafs eine Plasmoptyse der Bakterien überhaupt gar nicht existiert, dafs die von Fischer beobachteten Kugeln gar keine Bakterienprodukte sind.

Ich will vorausschicken, dafs ich mehrere hundert hängende Tropfen untersucht habe, jeden mehrmals und so gründlich als möglich. Die Tropfen wurden unter verschiedenen Variationen hergestellt, meist genau nach Fischers Vorschrift. Sie bestanden aus destilliertem Wasser, Leitungswasser, 0,75proz., 2proz. oder höherprozentiger Kochsalzlösung oder 5proz. Glyzerin und enthielten aufgeschwemmt Milzbrand-, Typhus-, Koli-, Pyocyaneus-, Prodigiosus-, Proteus-, Danubicus- oder Cholerabakterien. Die Bakterien waren teils auf gewöhnlichem Agar mit und ohne den gebräuchlichen 0,5proz. Kochsalzzusatz, teils auf dem von Fischer benutzten Nährboden gewachsen, das Alter der Kultur wechselte von 16 Stunden bis zu 4 Tagen.

Sehr auffällig war zunächst die aufserordentliche Inkonstanz, welche die Kugeln in ihrer Gröfse, in ihrem Auftreten nach Ort, Zahl und Zeit zeigen. So wechselt die Gröfse etwa zwischen 0,5 bis 6 $\mu$, die Zahl, ganz unabhängig von der eingesäten Bakterienmenge, zwischen 0—50 Stück pro Gesichtsfeld. Meist findet man sie nur im Randgebiet des Tropfens oder nur in einzelnen Teilen desselben. Auch bilden sich die Kugeln durchaus nicht nur in 2proz. Lösungen, sondern ebenso auch in 0,75prozentigen und in Wasser, unabhängig davon, ob die Bakterien einem Konzentrationsunterschied ausgesetzt werden oder nicht. Beträchtliche Schwankungen ergeben sich auch in bezug auf den Zeitpunkt, an welchem die Kugeln zuerst sichtbar werden. Fischer beobachtete sie meist schon im Verlauf der ersten Stunde nach Herstellung des Tropfens. Ich konnte sie selten so bald wahrnehmen, meist erst bei der zweiten Untersuchung, nach zwei, drei, oft erst nach vier bis sechs Stunden oder nach einem Tage.

Ferner konnte ich den Vorgang des Ausspeiens des Plasmas — wie anscheinend auch Fischer selbst — niemals beobachten. Dafs die Kugeln oft den Bakterien anliegen, kann man nicht als Beweis ansehen dafür, dafs die Kugeln von den Bakterien ausgestofsen worden sind. Durch die lebhafte Molekular- oder Eigenbewegung der Bakterien können beide Elemente in Berührung kommen, auch kann sich eine Kugel in nächster Nähe einer Stelle bilden, wo sich ein Bakterium befindet. Die kugeltragenden Bakterien sehen auch ganz gesund aus, unterscheiden sich nicht von ihren kugelfreien Genossen, zeigen eventuell wie diese deutliche plasmolytische Schrumpfung und lebhaft zappelnde Bewegung, wie wenn sie sich abmühten, von dem klebrigen Ding wieder loszukommen; wiederholt beobachtete ich Keime, welche mit einer Kugel belastet mit grofser Geschwindigkeit durch das Gesichtsfeld sausten; man kann sich schwer vorstellen, dafs Bakterien, welche einen grofsen Teil ihres Protoplasmas verloren haben, sich noch so lebhaft sollen bewegen können.

Die Färbung der Kugeln mit basischen Anilinfarbstoffen, welche doch möglich sein müfste, wenn es sich um plasmatische Substanz handelte, gelang weder Fischer noch mir. Wieder-

holt gelang es mir, ein Gesichtsfeld mit zahlreichen Kugeln und Bakterien, welches ich abgezeichnet hatte, nach der Eintrocknung und Färbung des Tropfens wieder aufzufinden: Die mit Methylenblau gefärbten Milzbrandfäden, sowie einige Schmutzpartikel waren vollzählig und in ihrer Lage fast unverändert erhalten geblieben, während die Kugeln spurlos verschwunden waren. (Die Fixierung der Deckgläschen war hierbei erreicht worden durch konzentrierte Sublimatlösung, Waschen in Alkohol und Äther.)

Bedeutungsvoller noch ist die Tatsache, dafs sich die Kugeln nur im hängenden Tropfen, nicht z. B. im Reagensglas bilden. Schwemmt man im Reagensglas in einer 2proz. Kochsalzlösung Bakterien auf und entnimmt zu beliebiger Zeit einen Hängetropfen, so kann man bei sofortiger Beobachtung keine Kugeln entdecken, trotzdem doch die Kochsalzlösung lange genug auf die Bakterien hat einwirken können; die Kugeln entstehen erst nach einiger Zeit. Auch Fischer hat dies beobachtet und er hat auch hier eine Erklärung bereit: Die Bakterien, sagt er, sinken in der Salzlösung sehr schnell zu Boden und nehmen hier, dicht beieinander, soviel Salz auf, dafs die am Boden des Probierröhrchens befindliche Salzlösung einen geringeren Prozentgehalt bekommt, bevor noch die zur Plasmoptyse erforderliche Salzmenge in die Bakterien eingedrungen ist. Diese eigentümliche Vorstellung kann man experimentell leicht widerlegen: man braucht nur die Proben nicht vom Sediment, sondern von der überstehenden Flüssigkeit, welche in den ersten Stunden noch viele Bakterien enthält, zu nehmen, oder man kann eine Sedimentierung verhindern, indem man die Röhrchen im Schüttelapparat aufbewahrt. Das Resultat ist immer das gleiche.

Die Plasmoptyse — darüber läfst Fischer keinen Zweifel — kann sich nur an lebenden Bakterien abspielen. Brachte ich nun in einen hängenden Tropfen Milzbrandfäden, welche durch 1stündiges Erhitzen auf 70° getötet waren, (drei damit besäte Platten blieben steril), so traten trotzdem die Kugeln auf.

Schliefslich überzeugte ich mich, dafs zur Kugelbildung die Anwesenheit von Bakterien überhaupt nicht erforderlich ist, sondern dafs die Kugeln auch im bakterienfreien Hänge-

tropfen, bestehend aus Aq. dest., 0,75 proz., 2 proz. oder 10 proz. Kochsalzlösung auftreten. War hierdurch erwiesen, dafs die Kugelbildung gänzlich unabhängig ist von den Bakterien, so zeigte sich andrerseits, dafs sie aufs innigste zusammenhängt mit der Beschaffenheit des Deckglases. Benutzte ich nämlich Deckgläser, welche durch Kochen mit Kaliumbichromat-Schwefelsäurelösung, Waschen mit Wasser, Alkohol und Äther gründlich gereinigt und bis zum Gebrauch vor der Berührung mit verunreinigenden Gegenständen ängstlich behütet worden waren, so traten die Kugeln nicht auf. Diese Tatsache konstatierte ich an etwa 70 hängenden Tropfen. Die Plasmoptysekugeln haben sonach ihre Entstehung zweifelsohne ungenügend gereinigten Deckgläsern zu verdanken.

Welcher Art die Stoffe sind, aus welchen sich die Kugeln bilden, darüber haben weitere Versuche kein sicheres Resultat ergeben. Die Färbung mit Osmiumsäure oder Sudan III gelang nicht in dem Grade, dafs man die Kugeln als Fett hätte bezeichnen können. Sicher ist, dafs das Vaselin oder das flüssige Paraffin, welches zum Abschlufs des Deckglases dient, keine Rolle spielt, denn die Resultate blieben die gleichen, wenn ich das Deckglas mit Siegellack oder Paraffin von hohem Schmelzpunkt (40°) abschlofs. Wahrscheinlich handelt es sich um Kohlenwasserstoffe, welche sich bei der Fabrikation der Deckgläser auf diesen aus der rauchenden Flamme kondensieren.

Erst einige Zeit nachdem ich diese Untersuchungen abgeschlossen und in der Gesellschaft für Morphologie und Physiologie in München darüber berichtet hatte, wurde ich darauf aufmerksam gemacht, dafs Fischer in der zweiten Auflage seines Lehrbuches »Vorlesungen über Bakterien« (erschienen 1903) seine Ansichten über die Plasmoptyse modifiziert habe. In der Tat findet sich in diesem Buche eine Anmerkung folgenden Inhalts: ». . . . Besonders wird man eine Beschreibung der Plasmoptyse an dieser Stelle vermissen. Ich benutze gerne die Gelegenheit, bereits hier, auf eine später zu veröffentlichende Arbeit verweisend, hervorzuheben, dafs einige Irrtümer in meiner

früheren Arbeit sich eingeschlichen haben, die zum Teil auf einem ungeahnten Einflufs der Deckgläser beruhen. . . . .«

Fischer hat sich also ohne Zweifel schon selbst davon überzeugt, dafs er durch die Unreinheit seiner Deckgläser getäuscht worden ist. Da er es aber, soviel mir bekannt ist, bisher unterlassen hat, den Sachverhalt genauer darzulegen, hielt ich mich für berechtigt, im vorstehenden über das Ergebnis meiner Untersuchungen zu berichten, auch nachdem mir der Widerruf Fischers bekannt geworden war.

Für Choleravibrionen will Fischer, wie aus der Darstellung auf S. 48 seines Lehrbuches hervorgeht, die Plasmoptyse auch jetzt noch retten, wenn er sie auch nicht mehr als osmotische Erscheinung, sondern nur als Degenerationserscheinung aufgefafst wissen will. Er schreibt: »Zwischen den schlanken Vibrionen finden sich zahlreiche, genau kugelige Gebilde mit mattem Inhalt, in dem oft ein glänzendes Körperchen schärfer hervortritt. Diese Plasmoptysekugeln sind in 1—2 Tage alten Kulturen zum Teil noch gut beweglich und tragen eine Geifsel, wie der Choleravibrio. Wie die noch schlank gebliebenen Vibrionen sind auch die Kugeln plasmolysierbar, sie haben eine besondere Zellwand und protoplasmatischen Inhalt.« Diese Gebilde, welche Fischer, wieder im Irrtum, jetzt für identisch erklärt mit den Pfeifferschen Kügelchen, sind natürlich scharf verschieden von den oben charakterisierten »Plasmoptysekugeln.« Es ist wohl kein Zweifel, dafs diese Kugeln dasselbe sind wie die Ferranschen Körperchen, welche auch Firtsch in dem Laboratorium von Prof Gruber in Graz bei Vibrio Proteus gefunden und beschrieben hat. Ob nun diese Kugeln durch Aufquellung oder Aufblähung des Bakterienleibes entstehen, oder ob sie, wie Fischer meint, ausgestofsenes Protoplasma darstellen, welches alsbald eine neue Zellmembran ausscheidet, möge dahingestellt bleiben.

# ARCHIV FÜR HYGIENE.

(BEGRÜNDET VON MAX v. PETTENKOFER.)

UNTER MITWIRKUNG

VON

Prof. Dr. O. BOLLINGER, München; Prof. Dr. BONHOFF, Marburg a. L.; Prof. Dr. R. EMMERICH, München; Prof. Dr. F. ERISMANN, Zürich; Prof. Dr. HEIM, Erlangen; Prof. Dr. F. HUEPPE, Prag; Prof. Dr. KABRHEL, Prag; Prof. Dr. F. KRATSCHMER, Wien; Prof. Dr. K. LEHMANN, Würzburg; Prof. Dr. A. LODE, Innsbruck; Prof. Dr. L. PFEIFFER, Rostock; Prof. Dr. W. PRAUSNITZ, Graz; Prof. Dr. F. RENK, Dresden; Prof. Dr. SCHOTTELIUS, Freiburg i. B.; Generaloberarzt Dr. A. SCHUSTER, München; Prof. Dr. WERNICKE, Posen.

HERAUSGEGEBEN

VON

J. FORSTER, M. GRUBER, FR. HOFMANN, M. RUBNER,

O. Ö. PROFESSOREN DER HYGIENE UND DIREKTOREN DER HYGIENISCHEN INSTITUTE AN DEN UNIVERSITÄTEN ZU

STRASSBURG MÜNCHEN LEIPZIG BERLIN.

FÜNFUNDFÜNFZIGSTER BAND.

Mit 7 Abbildungen und 1 Tafel.

MÜNCHEN UND BERLIN.
DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG.
1906.

# Inhalt.


Seite

Experimentelle Studien über die Durchgängigkeit der Wandungen des Magendarmkanales neugeborener Tiere für Bakterien und genuine Eiweifsstoffe. Von Dr. Albert Uffenheimer, Kinderarzt in München. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität München. Direktor: Obermedizinalrat Prof. Dr. Gruber.) (Mit Tafel I) . . . . . 1

Reagentien und Versuchsmethoden zum Studium der proteolytischen und gelatinolytischen Enzyme. Von Prof. Claudio Fermi. (Hygienisches Institut der Kgl. Universität Sassari [Sardinien]) . . . . 140

Über die Feuchtigkeit verschiedener Mauerarten. Experimentelle Untersuchungen von Ing. Riccardo Bianchini. (Hygienisches Institut der Kgl. Universität Turin. Direktor: Prof. Dr. L. Pagliani) . 206

Über das Eindringen der Wärme in feste Objekte und Organteile tierischer Herkunft. Von Max Rubner . . . . . 225

Über den Mäusetyphusbazillus und seine Verwandten. Von Dr. Richard Trommsdorff, Assistenten des Institutes. (Aus dem Hygienischen Institute der Universität München) . . . . . 279

Die Tageskurve der Wasserdampfabgabe des Menschen. Von Prof. Dr. med. H. Wolpert, Oberassistenten am Institut, und Dr. med. F. Peters, früherem Assistenten am Institut. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin) . . . . . 299

Über die Nachwirkung körperlicher Arbeit auf die Wasserdampfabgabe beim Menschen. Von Prof. Dr. med. H. Wolpert, Oberassistenten am Institut, und Dr. med. F. Peters, früherem Assistenten am Institut. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin) . . . . . 309

Organeiweifs und Nahrungseiweifs. Von Dr. Ulrich Friedemann, Assistenten am Institut. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Rubner) . . 323


Digitized by Google

Seite

Neue biologische Beziehungen zwischen Koli- und Typhusbakterien. Zugleich ein Beitrag zur Lehre vom Aggressin. Von Dr. Gottlieb Salus. (Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag. Vorstand: Prof. F. Hueppe) . . . . . 335

Über die Fällungen von Eiweifs durch andere Kolloide und ihre Beziehungen zu den Immunkörperreaktionen. Von Dr. Ulrich Friedemann, Assistent am Hygienischen Institut der Universität Berlin. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. M. Rubner) . . . 361

Der Einfluſs der Verankerung des lytischen Ambozeptors auf die Zelle. (Bemerkung zu der von Leuchs in diesem Archiv, Bd. 54, Heft 4, erschienenen Arbeit »Sind bei der bakteriziden Wirkung des Blutserums osmotische Vorgänge im Spiel?«) Von Privatdozent Dr. E. Friedberger, I. Assistenten am Institut. (Aus dem Kgl. Hygienischen Institut der Universität Königsberg i. P. Direktor: Prof. R. Pfeiffer) . . . . . 390

Zusatz zu der vorstehenden Bemerkung Dr. Friedbergers. Von Prof. Max Gruber . . . . . 392

# Experimentelle Studien über die Durchgängigkeit der Wandungen des Magendarmkanales neugeborener Tiere für Bakterien und genuine Eiweifsstoffe.

Von

Dr. Albert Uffenheimer,

Kinderarzt in München.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität München. Direktor: Obermedizinalrat Prof. Dr. Gruber.)

(Mit Tafel I.)

»Manuskript abgeschlossen Ende Juni 1905.«

Am 25. September 1903 hielt E. v. Behring auf der 75. Versammlung von Naturforschern und Ärzten in Kassel einen Vortrag über »Tuberkulosebekämpfung«. Ausgehend von seinen Experimenten der Immunisierung des Rindes gegen die Tuberkulose kam er nach einer Reihe von Überlegungen, speziell pathologisch-anatomischer und tiermedizinischer Art, dazu, zu leugnen, dafs die Gelegenheit zur Infektion mit Tuberkelbazillen (wie sie in der Natur vorhanden ist) für erwachsene Menschen allein für sich einen entscheidenden Faktor repräsentiere für die Entstehung der Lungenschwindsucht. Er gestand vielmehr ein Vorkommen tuberkulöser Lungenerkrankungen mit schliefslichem Ausgang in Schwindsucht durch Infektionen erwachsener Menschen nur in dem Sinne zu, »dafs auf der Grundlage infantiler Infektion eine Lungenschwindsucht durch die additionellen Infektionen erst zum Ausbruch« gelange. Seine Meinung, wie diese infantile Ansteckung zustande komme, präzisierte er in dem überraschenden Satz: »Die Säuglingsmilch ist die Hauptquelle für die Schwindsuchtsentstehung«.

v. Behring ging dabei aus von den Befunden seines Mitarbeiters Römer, »dafs genuine Eiweifskörper die Intestinalschleimhaut neugeborener Fohlen, Kälber und kleinerer Labora-

toriumstiere ebenso unverändert durchdringen und ebensolche Wirkungen auf den Gesamtorganismus ausüben, wie wenn man sie direkt in die Blutbahn hineinbringt, während erwachsene Individuen aller Tierarten die genuinen Eiweifskörper erst verdauen und in sog. Peptone umwandeln müssen, ehe sie die Intestinalschleimhaut passieren können«.

»Das Diphtherieheilserum und das Tetanusheilserum enthalten Heilkörper in Gestalt von genuinem Eiweifs. Davon geht nun keine Spur nach stomachaler Einverleibung in das Blut von gesunden erwachsenen Tieren und Menschen über; bei Neugeborenen dagegen kann man nach stomachaler Einverleibung fast quantitativ das unveränderte antitoxische Eiweifs experimentell im Blute nachweisen. Diese Entdeckung besagt, dafs die gröfsten Moleküle, welche wir kennen, die genuinen Eiweifsmoleküle, durch die bei Erwachsenen als dialysierende Membranen fungierenden Schleimhäute nicht unverändert hindurchgehen können, während die Schleimhäute des Säuglings sich ihnen gegenüber verhalten wie ein grofsporiges Filter.«

v. Behring dehnte konsequenterweise seine Nachforschungen auch auf das Verhalten der Bakterien gegenüber dem Darmkanale des Säuglings aus und benutzte zu seinen Versuchen Milzbrand- und Tuberkelbazillen.

Es wird in den folgenden Teilen genau einzugehen sein auf die Einzelheiten dieser Untersuchungen, soweit die Protokolle darüber bis heute vorliegen, hier seien nur kurz die Resultate wiedergegeben, wie sie v. Behring in Kassel referierte.

Meerschweine im Alter bis zu 8 Tagen starben bei Fütterung mit virulenten sporenfreien Milzbrandbazillen (mit Milch gegeben) »ebenso schnell an Milzbrand, wie nach der sonst üblichen Infektionsmethode«.

Nach Verfütterung abgeschwächter Milzbrandbazillen an neugeborene Meerschweine »wurde das Blut bazillenhaltig gefunden, ohne dafs die Versuchstiere hinterher an Milzbrand zugrunde gingen«. Bei der einmaligen Verfütterung von Tuberkelbazillen in sehr geringer Menge zeigte es sich, dafs die neugeborenen oder wenige Tage alten Tiere tuberkulös wurden. »Gab man

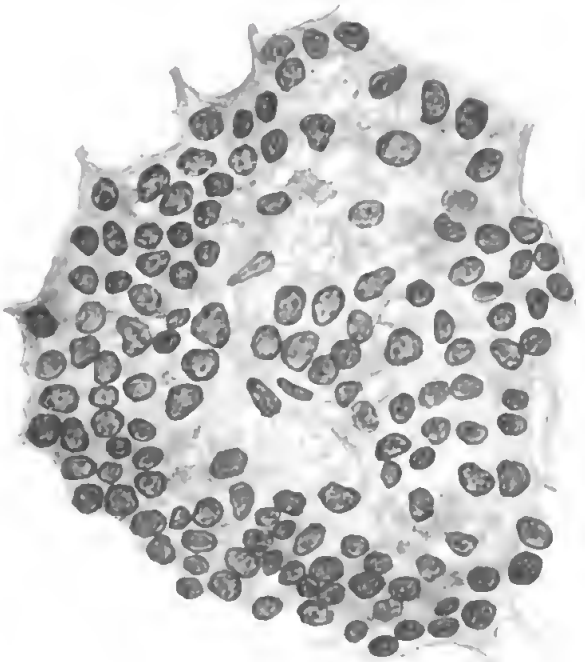


Fig. 6.

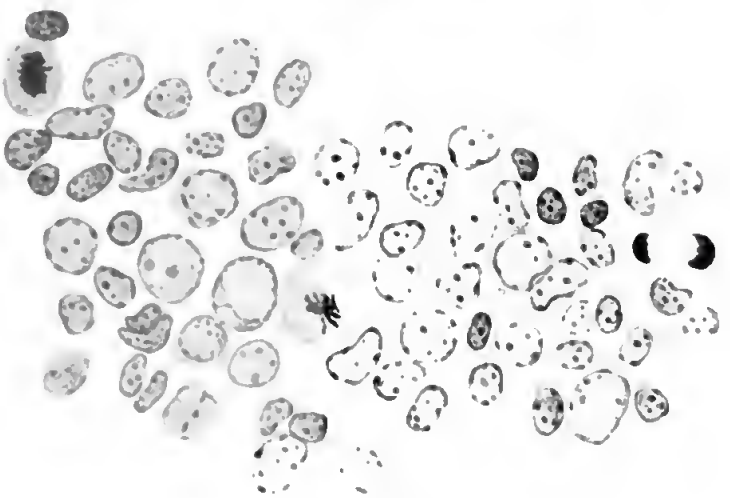


Fig. 7a.

Fig. 7b.

Verlag von K.

gröfsere Dosen, dann kam es vor, dafs auch ältere Tiere tuberkulös wurden. Bei neugeborenen Tieren fanden wir wenige Tage später als Sektionsbefund submiliare Verdickungen im kleinen und grofsen Netz mit Tuberkelbazillen, sowie kleine Knötchen an einer dem Blinddarm nahegelegenen Stelle der Mesenterialwurzel. Von besonderem Interesse ist der Entwicklungsgang der alimentären Meerschweintuberkulose bei den am Leben gelassenen Tieren. Immer kann man bei den mit positivem Erfolge gefütterten Tieren, während ihr Allgemeinbefinden noch durchaus normal ist, zuerst Halsdrüsentuberkulose feststellen, ein Erkrankungsmodus, welcher der menschlichen Skrofulose am meisten entsprechen dürfte. Später entwickelt sich nicht selten dasjenige Bild der Meerschweintuberkulose, welches man bisher als den Ausdruck einer Inhalationstuberkulose aufgefafst hat.«

»Ich sehe in diesen Versuchsergebnissen eine experimentelle Bestätigung meiner schon früher vertretenen Auffassung von der Entstehung auch der epidemiologischen Lungentuberkulose des Menschen und der epizootischen Lungentuberkulose des Rindes durch primär-intestinale Infektion und zwar durch eine intestinale Infektion in sehr jugendlichem Lebensalter, wobei ich unentschieden lasse, ob die intestinale Infektion durch Fütterung oder durch Einatmung zustande kommt.«

v. Behring zog aus seinen experimentellen Feststellungen noch die logische Konsequenz, dafs auch alle Milchbakterien die Möglichkeit des Übergangs in die Blutbahn haben, und dafs die zufällige Anwesenheit krankmachender Bakterien in der Säuglingsmilch eine verderbliche Wirkung auf den jugendlichen Kindeskörper ausübe. Selbstverständlich suchte der Forscher auch nach dem zwingenden Grund für diesen fundamentalen Unterschied zwischen der Durchlässigkeit der intestinalen Schleimhäute im jugendlichen und im späteren Alter. und er konnte noch in diesem Vortrage angeben, dafs neugeborene Individuen keine zusammenhängende Epitheldecke auf ihren Schleimhäuten besitzen, und dafs ihre fermentabsondernden Drüsenschläuche noch wenig oder gar nicht entwickelt sind. Dies sind die Hauptgrundlagen der neuen Lehre.

Alsbald nach dem Kongrefs erhoben sich zahlreiche Stimmen, die den Behringschen Anschauungen in mehr oder minder scharfer Weise widersprachen. Glänzende Namen, wie Flügge, Orth, Albrecht, B. Fränkel, A. Baginsky hielten es für ihre Pflicht, einer grofsen Reihe von Ableitungen und Theorien des Kasseler Vortrages und weiterer ergänzender Veröffentlichungen zu widersprechen. Aber ein Punkt war es, gegen den sich bis zum Beginn meiner Arbeit nicht ein Wort des Widerspruchs erhob, die behauptete Durchlässigkeit des Intestinaltraktes Neugeborener für Bakterien und genuine Eiweifse.

Gerade hier jedoch mufste nach meiner Meinung eine genaue experimentelle Prüfung erweisen, inwieweit die Behringsche Behauptung generelle Bedeutung habe.

Bei diesem Punkt also setzt meine Arbeit ein. Das Eingehen auf andere Details der Behringschen Veröffentlichungen, so interessant es gerade für den Kliniker wäre, mufs ich mir an dieser Stelle versagen, doch hoffe ich später noch Gelegenheit zu finden, unter Benutzung meiner experimentellen Resultate das gesamte Thema von einer höheren Warte aus zu betrachten. —

Die Möglichkeit, dafs sich der Magendarmkanal Neugeborener anders verhält wie der Erwachsener, kann man nicht ablehnen, weil gewisse Verschiedenheiten in den sekretorischen Funktionen unzweifelhaft sind.

In bezug auf die Desinfektion des Inhalts ist nämlich der Kindermagen — wie wir durch Biedert wissen — wenig leistungsfähig; nur die leicht verdauliche Muttermilch läfst in gehörigen Zwischenräumen die bakterienfeindliche freie Salzsäure aufkommen; bei Kuhmilchnahrung bleibt diese unter Kasein und Salzen gewöhnlich unterdrückt.

Aus der Langermannschen Arbeit über den gleichen Gegenstand geht hervor, dafs das mehr oder minder starke Hervortreten von freier Salzsäure ganz allein die Höhe der Kolonienzahl des Mageninhaltes beeinflufst. Auch Hamburger fand dementsprechend, dafs beim Vorhandensein von freier Salzsäure im Mageninhalt keine Mikroben vorkommen. Ähnliche Ergebnisse

lernen wir für verschiedene Altersstufen aus Arbeiten von Kijanowsky und Seiffert kennen. Die Keimfreiheit der von Nahrungsbrei oder Fäces nicht berührten Darmschleimhaut konnte Kohlbrugge nachweisen; für den leeren Dünndarm hat erst kürzlich Jundell das Gleiche gefunden. Bei künstlich ernährten Kindern traf Langermann nie freie Säure, da der kindliche Magen an und für sich schon weniger HCl sezerniert als der des Erwachsenen (van Puteren). Hierzu kommt noch und nicht in letzter Linie die HCl bindende Kraft des Kaseins und der Milchsalze (Leo und Escherich, Heubner, Müller). Besonders wichtig erscheint mir der Müllersche Nachweis, dafs die Kuhmilch ca. dreimal soviel Salzsäure zu binden imstande ist wie die Frauenmilch. Das sind also Verhältnisse, die an eine mögliche Erleichterung, speziell des Bakterienübertritts aus dem kindlichen Magen in die Blutbahn denken lassen müssen, und die bei der Feststellung der Versuchsanordnungen Berücksichtigung verdienen.

Ich habe die folgenden Untersuchungen am hygienischen Institut der Universität München von November 1903 ab bis zum Juni 1905 vorgenommen.

Die Versuche wurden zum gröfsten Teile an neugeborenen Meerschweinchen angestellt. Einerseits waren die Experimente so zahlreich und nach so verschiedenen Richtungen hin ausgedehnt, dafs nicht gut mehr als eine Tierart zur Verwendung kommen konnte, anderseits liefsen äufsere Bedingungen (Stallverhältnisse, relative Leichtigkeit genügend viel neugeborene Meerschweinchen zu erhalten) im grofsen Ganzen eine Beschränkung der Arbeiten auf das Meerschweinchen für geraten erscheinen. Schliefslich ergab sich aber doch die Notwendigkeit, vergleichende Experimente an Kaninchen anzustellen. Einige wenige Untersuchungen konnten auch am Menschen vorgenommen werden.

Die Versuche gliedern sich naturgemäfs in solche der Verfütterung von Bakterien und von genuinen Eiweifskörpern. An Bakterien habe ich den Mikrokokkus tetragenus zu einer Reihe von Vorversuchen verwendet, um dann,

gleich v. Behring, ausgedehnte Experimente mit dem Milzbrand- und Tuberkelbazillus anzustellen. Sehr interessante Wahrnehmungen konnte ich zuletzt noch bei der Verfütterung des Bazillus prodigiosus machen. Von genuinen Eiweifskörpern wurde eine gröfsere Anzahl zur Anwendung gezogen. Die v. Behringsche Behauptung von der Durchlässigkeit der Magendarmwand des Neugeborenen für dieselben stützt sich nur auf die Römerschen Versuche mit Antitoxinen, die ja wahrscheinlich an natives Eiweifs gebunden sind, vielleicht aber — sie rein darzustellen ist sicher noch nicht gelungen — auch ohne solches ihre Wirkungen entfalten können. Es galt also Eiweifskörper mit heranzuziehen, die wir besser kennen. Als solche waren das Kuhkasein und das Hühnereier-Eiweifs am geeignetsten. Weiter habe ich noch Experimente angestellt mit einem hämolytischen Serum, und von Antitoxinen habe ich das der Diphtherie und des Tetanus verwendet. Es lag nahe, auch einige Versuche mit Toxinen vorzunehmen. Diese werden in einem kurzen Anhange Berücksichtigung finden.

Nach den Behringschen Angaben von dem Fehlen einer zusammenhängenden Epithelschicht auf den Schleimhäuten des Intestinums schienen auch anatomische (histologische) Untersuchungen in gröfserer Menge erforderlich. Ein besonderes Augenmerk mufste hierbei auf den etwa mikroskopisch nachweisbaren Übergang der Bakterien durch die Schleimhäute gerichtet werden. Auch hierüber will ich in einem zweiten Anhang in Kürze referieren.

---

Sämtliche Versuche sollten eine möglichst einfache Anordnung haben, welche die im Leben vorhandenen Bedingungen, so weit es anging, nachahmte.

Ganz besonders kam es bei jeder Art von Fütterung darauf an, Verletzungen der Schleimhäute sicher zu vermeiden. Alle Experimente mufsten untereinander die gröfste Übereinstimmung zeigen, um gut verglichen werden zu können.

Die Fütterungen mit flüssigen Medien wurden unter Zuhilfenahme von Pipetten[1]) vorgenommen. Mit diesen gelingt es leicht, die notwendigen Mengen zu verabreichen. Man nimmt die kleinen Tierchen auf die hohle Hand, legt sie auf den Rücken und schiebt (ohne dafs irgendeine Art von Knebel oder Mundsperre verwendet zu werden braucht, wobei Verletzungen sich nicht vermeiden lassen), das spitzige Ende der Pipette seitlich zwischen die Zahnreihen. Hierauf läfst man das zu verfütternde Medium tropfenweise dem Tier auf die Zunge fliefsen und wartet mit dem neuen Tropfen, bis der letzte geschluckt ist[2]). Manchmal ist das keine geringe Geduldprobe, speziell bei den Heilseris, deren Eingabe die Tiere wegen des Carbolgeschmackes widerstreben. Es gibt allerlei kleine Hilfsmittel, um das Hinunterschlucken zu befördern, z. B. ein leichtes Hinabziehen des Unterkiefers von aufsen, ähnlich dem bei Narkosen üblichen englischen Handgriff usw.

Bei der notwendigen Übung und Geduld gelingt es auf diese Weise, jegliches flüssige Medium quantitativ zu verfüttern.

Für die Bakterien-Fütterungen fertigte ich mir eine Glasöse an, die dem von Metschnikoff in seiner Arbeit »Recherches sur le choléra et les vibrions« beschriebenen Instrument ähnelte. Es gelang mit dieser Öse leicht, den Milzbrandbazillenbrei oder die Tuberkelbazillenhäute den Tieren ohne jede Verletzung (seitlich durch die Zahnreihen hindurch) in die Mundhöhle einzuführen.

Jedenfalls scheint mir die von mir angewandte Methodik besser, als wenn man Milch als Vehikel benutzt. Gegen die Verfütterung mit Kuhmilch ist ganz besonders in Betracht zu ziehen, dafs dieselbe ungefähr dreimal so viel Salzsäure bindet wie beispielsweise Frauenmilch, es wird damit also dem Magen

1) Zu den ersten Fütterungen mit hämolytischem Serum und mit Tuberkelbazillen dienten gewöhnliche kalibrierte Pipetten, alle übrigen wurden mit solchen von 2 ccm Inhalt, die an ihrem Ende einen derben Gummiball trugen, vorgenommen.

2) Mehr als 2 ccm Flüssigkeit auf einmal zu geben, ist nicht rätlich. Der Magen eines 70 g schweren neugeborenen Meerschweinchens faſste — wie ich mich durch Wägung überzeugte — 2,19 g Wasser.

ein gut Teil seines Denaturierungsvermögens genommen. Weshalb ich bei den Bakterien dazu gekommen bin, dieselben trocken zu verabreichen, wird an späterer Stelle ausgeführt werden[1]). Den Einwand, dafs die nicht in Flüssigkeiten aufgeschwemmten Mikroben viel weniger Möglichkeit haben, mit der Magendarmwand in direkte Berührung zu treten und durch dieselbe durchzudringen, kann ich auf Grund von Beobachtungen mit dem B. prodigiosus widerlegen. Es zeigte sich nämlich, wenn eine Stunde nach der Fütterung die Sektion vorgenommen wurde, gerade an den äufseren, der Schleimhaut naheliegenden Teilen des Magens der Speisebrei rosarot gefärbt (zumeist bedeutend stärker als in der Mitte), und die Untersuchung eben dieser Teile ergab eine Unmasse von Prodigiosuskeimen. —

Über die Vorversuche der Verfütterung von Mikrokokkus tetragenus gehe ich schnell hinweg, da sie mir in der Hauptsache nur zur Feststellung der geeigneten Fütterungs- und Untersuchungstechnik dienten. Der Tetragenus selbst war für das Meerschweinchen wenig virulent, so dafs ein spontaner Tod der Tiere überhaupt nicht zu erwarten war. Von den 5 genau untersuchten Tieren konnte bei keinem in irgendeinem Organ noch Mikrokokkus tetragenus aufgefunden werden.

### Versuche mit dem Milzbrandbazillus.

Über seine mit Much ausgeführten Milzbrandexperimente gibt von Behring im 8. Heft seiner Beiträge Näheres an. Darnach hat er abgewogene Mengen junger sporenfreier Agarkulturen, in gekochter Milch suspendiert, mittels einer Pipette an die kleinen Tiere verfüttert. Während ausgewachsene Meerschweinchen die Fütterung mit solchen sporenfreien Milzbrandbazillen, welche für sie nach subkutaner Impfung sicher tödtlich sind, ohne Schaden vertrugen, starben ganz junge Meerschweinchen, auf die gleiche Art gefüttert, an Milzbrand wie nach subkutaner Injektion. Fünf Experimente führte von Behring des Genaueren an. Es sei erlaubt, das Wichtigste von ihnen wieder-

1) Beim Kapitel »Tuberkelbazillen«.

zugeben, denn sie müssen als Vergleichspunkte für meine eigenen Versuche dienen. Die ersten vier sind mit einem Milzbrandbazillus angestellt, der für Meerschweinchen avirulent war.

Nr. 1 und 2 waren neugeborene Tiere, mit je 0,1 g einer eintägigen Axb.[1])-Agarkultur gefüttert. Bei Nr. 1 fanden sich eine Stunde nach der Fütterung aufser im Darmkanal keine Axb in den Organen. Bei Nr. 2 waren in der Magenschleimhaut und zwar in der obersten Schicht, spärlich Axb. »Die inneren Organe liefsen bei mikroskopischer Untersuchung und bei der üblichen kulturellen Untersuchung von kleinen Impfproben keine Bazillen erkennen. Dagegen gingen aus 1,5 ccm Blut, die wir auf Agar in einer Petri-Schale ausgossen, mehrere Axb-Kolonien an und aus einem anderen Teil des in einem Bouillon-Reagenzglas aufgefangenen Blutes kam es gleichfalls zum Wachstum einer typischen Milzbrandkultur. Die mikroskopische Untersuchung des frisch aufgefangenen Blutes und die Überimpfung einer Platinöse voll Blut auf Agar hatte ein negatives Ergebnis.«

Bei Nr. 3 wurden durch das Plattenkulturverfahren 6 Keime pro 1 ccm Blut nachgewiesen. »Bei diesem Meerschweinchen gelang auch der Axb-Nachweis für ein in der Nähe des Blinddarms gelegenes Lymphknötchen in der Radix mesenterii.«

Nr. 4. »Von einem 8 Stunden alten Meerschweinchen wurde 20 Stunden nach der Fütterung 1 ccm Blut an der Art. femoralis entleert und nach Zusatz von etwas Bouillon auf Petri-Schalen ausgegossen. Es ging darnach nur 1 Axb-Kolonie an. 24 Stunden später wurde etwas Blut aus der Vena jugularis entnommen; in dieser Blutprobe konnten wir wieder mikroskopisch Axb nachweisen. 6 Stunden nach der zweiten Blutentnahme ging das Tier (an Erschöpfung?) zugrunde. Wir konnten nach der Sektion weder im Tubus alimentarius, noch im Blut und in den Organen Axb auffinden.

v. Behring glaubt darnach, dafs avirulente Milzbrandbazillen normalerweise die Wandung des Tubus alimentarius durchdringen und in die Blutbahn gelangen können. Als Prä-

1) Die Abkürzung »Axb« = Anthraxbazillus übernehme ich von Behring.

dilektionsstellen für den Bazillendurchtritt sieht er Magen- und Blinddarmwandung an.

Der fünfte Versuch, den er in extenso veröffentlicht, ist mit einem Axb angestellt, der für Kaninchen, aber nicht für Meerschweinchen avirulent war.

Das Tier starb 3 Tage nach der Verfütterung von 0,04 g Agarkultur.

»Bei der alsbald hinterher ausgeführten Untersuchung fanden wir mikroskopisch Axb in der Magenwandung und im Blinddarminhalt .... Sehr reichlich war der Axb-Befund in den mesenterialen und retroperitonealen Lymphdrüsen, sowie in der Leber, weniger reichlich in der Milz.«

»Als besonders bemerkenswerten Befund möchten wir aus den hierhergehörigen Versuchsreihen noch das Durchwachsen von Milzbrandfäden durch die Magenwand hervorheben. Einen solchen Befund haben wir bei einem Meerschwein konstatiert, welches im Alter von 8 Stunden bei einem Gewicht von 85 g wie gewöhnlich von uns stomachal mit Axb infiziert worden war. 7 Stunden nach der Fütterung fiel das Tier durch seine grofse Mattigkeit und Muskelschlaffheit auf. Wir töteten es in diesem Zustande und fanden auf mikroskopischem Wege Axb, aufser im Magen, an keiner Stelle des Tubus alimentarius. Im Magen liefsen sich einige zu langen Fäden ausgewachsene Bazillen durch die ganze Dicke der Wandung verfolgen. Während die mikroskopische Untersuchung des Blinddarms und seines Inhalts ein negatives Ergebnis hatte, fanden wir ferner in einem kleinen mesenterialen Lymphknoten, welcher in der Nähe des Blinddarms gelegen war, mehrere Axb. Die mikroskopische Untersuchung des Blutes und der Organe gab überall ein negatives Resultat; aber nach reichlicher Überimpfung von Blut in Bouillon bekamen wir eine typische Milzbrandkultur.«

Vergleichen wir mit diesen Befunden unsere eigenen Resultate. Ich habe zwei verschiedene Milzbrandstämme zu meinen Experimenten benutzt, die ersten Versuche sind ausgeführt mit einer in der Sammlung des hygienischen Institutes befindlichen Kultur, bezeichnet »Milzbrand Emmerich Mäusepassage«. Den

zweiten Stamm verdanke ich der Güte des Herrn Prof. Paltauf in Wien.

Einer jeden Versuchsreihe ging die mikroskopische Untersuchung der zu verfütternden Kultur voraus und die Kontroll-Impfung eines Meerschweinchens mit einer geringsten Kulturmenge parallel.

### I. Versuche mit Axb „Emmerich Mäusepassage".

Dieser Stamm tötete zu Beginn der Versuche eine Maus in weniger als 20 Stunden, ein Meerschweinchen in 46½ Stunden. Im Laufe der Experimente wurde durch die weiteren Tierpassagen eine Virulenzsteigerung herbeizuführen getrachtet. Das Material zu diesen Passagen boten die Kontrollmeerschweinchen, aus denen stets der für die folgende Reihe verwendete Milzbrandbazillus neu gezüchtet wurde.

#### 1. Reihe. 27. I. 1904.

Kontrolle: Ein 90 g schweres Tier stirbt, mit geringster Menge geimpft, nach 46½ Stunden. Obduktion ergibt typischen Milzbrand (im Herzblut wenige, in Milz sehr viele Axb).

Die vier gefütterten Tierchen waren wenige Stunden alt, die 16stündige Axb-Kultur erwies sich als vollkommen sporenfrei.

1. Junges R I, 95 g schwer, erhält mittels Glasöse 0,006 g Axb[1]), bleibt völlig gesund.

2. Junges R II, 90 g schwer, erhält per os 0,015 g Axb, bleibt völlig gesund.

3. Junges S I, 95 g schwer, erhält per os 0,049 g Axb.

4. Junges S II, 90 g schwer, erhält per os 0,072 g Axb. Beide Tiere bleiben völlig gesund. (Die Beobachtung erstreckte sich auf mindestens 1 Woche, meist auf viel längere Zeit.)

Gleichzeitig mit diesen jungen Tieren wurden drei alte Meerschweinchen, zwischen 320 und 360 g Gewicht, mit der gleichen Agarkultur (zu jedem Versuch waren zahlreiche Röhrchen vorbereitet) gefüttert, das eine, nachdem der Magensaft

1) Die Bazillenmenge wurde in der Weise bestimmt, daſs das Gewicht der Kulturröhrchen oder Kölbchen direkt vor und direkt nach der Fütterung auf der chemischen Wage aufgenommen wurde. Die Differenz der beiden Werte zeigte die Bazillenmenge an. Natürlich wurde von einem Abbrennen des Wattepfropfens abgesehen und das Mitnehmen von Kondenswasser vermieden.

vorher mit 10 ccm einer 5proz. Sodalösung neutralisiert war. Verfütterte Axb-Menge zwischen 0,05 und 0,07 g. Die alten Tiere blieben ebenfalls völlig gesund.

### 2. Reihe. 4. II. 1904.

Kontrolltier zwischen 30. und 45. Stunde nach der Impfung gestorben. Obduktion: Typischer Milzbrand. In Herzblut und Leber mäfsige Axb-Mengen, in Milz aufserordentlich reichliche Axb-Exemplare.

Die gefütterten Meerschweinchen waren $1^1/_2$ Tage alt, die 17stündige Kultur war sporenfrei.

5. Junges Y I, erhält 0,075 g Axb per os.

6. Junges Y II, erhält 0,052 g Axb per os.

Beide Tiere bleiben völlig gesund.

Drei gleichzeitig mit bedeutend höheren Axb-Mengen (0,1 bis 0,23 g) behandelte alte Meerschweinchen, z. T. wieder mit durch Soda neutralisiertem Magensaft, blieben ebenfalls gesund.

In dem einem gefütterten Tier nach 3 Tagen entnommenen Kot gelang es weder mikroskopisch noch durch Kultur oder Tierversuch mehr, Axb nachzuweisen.

### 3. Reihe. 12. II. 1904.

Seit der zweiten Meerschweinchenpassage bildete der Axb aufserordentlich schnell (in 15—16 Stunden) reichliche freie Sporen. Schliefslich wurde eine 6 Stunden alte Kultur völlig sporenfrei befunden.

Das Kontrolltier starb in weniger als 2 Tagen an typischem Milzbrand

7. Junges T I, 3 Tage alt, 125 g schwer, erhält stomachal 0,037 g Axb einverleibt.

Das Tier bleibt völlig gesund.

In dem $17^1/_2$ Stunden nach der Fütterung abgedrückten Kot liefsen sich weder mikroskopisch, noch durch Kultur (Bouillon, Agar, Gelatine), noch auch durch den Tierversuch Axb nachweisen.

### 4. Reihe. 17. II. 1904.

Die benutzte Agarkultur war sporenfrei. Das geimpfte Kontrolltier ging nach 2mal 24 Stunden an Milzbrand ein. Ein weiteres Kontrolltier, mit einer an der Platinspitze kaum mehr sichtbaren Axb-Menge infiziert, starb nach 3mal 24 Stunden an Milzbrand. Die Jungen waren bei der Fütterung 2—3 Tage alt und 90 g schwer.

8. Junges $\alpha$ I, erhält mittels Glasöse 0,045 g Axb.

9. Junges *a* II erhält per os 0,0725 g Axb.
Beide Tiere bleiben völlig gesund.

Sofort nach der Fütterung werden die beiden Tierchen in ein leeres Glasgefäfs gebracht, wo 6 Stunden lang ihr Kot aufgefangen wird. Von diesem werden 5—6 Ballen mit 1 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung verrieben. Die hiervon angefertigten Präparate zeigen zahlreiche Stäbchen, die wie Axb aussehen. Ein Teil dieser Stäbchen erweist sich als sporenhaltig (wobei die Frage offen gelassen werden kann, ob die Sporen erst nach dem Gelangen des Kots an die Aufsenwelt sich gebildet haben). Auf den verschiedensten Kulturmedien gehen reichlich Milzbrandbazillen auf. Es werden mit der Kotverreibung eine Anzahl Agarplatten hintereinander beschickt. Auf der vierten Platte wachsen überhaupt nur Axb.

Einem älteren Meerschweinchen werden 5 Kotballen in eine Hauttasche über dem Genitale gebracht. Das Tier wird am 9. Tag darnach tot aufgefunden. Die Obduktion ergibt Ödem an den Inguinalbeugen, grofse Milz. Im Herzblut wenig, in Leber mäfsig viel, in Milz aufserordentlich viel Axb. Kulturen aus den verschiedenen Organen zeigen Axb in Reinkultur.

Es ist also festgestellt, dafs der Milzbrandbazillus aufserordentlich schnell den Intestinaltraktus wieder verläfst. In dem in den ersten 6 Stunden nach der Fütterung entleerten Kot waren Axb in grofser Anzahl vorhanden. Dagegen waren schon $17\frac{1}{2}$ Stunden nach der Verabreichung reichlicher Mengen auf keine Weise mehr auch nur vereinzelte Exemplare zu finden.[1]) Durch das Passieren des Darmes, vor allem des Magens, war der Milzbrandbazillus seiner pathogenen Kraft nicht beraubt worden.[2]) Die Verlängerung der Frist bis zum Tode bei dem geimpften Meerschweinchen ist wahrscheinlich nicht zu erklären aus einer Abschwächung der Pathogenität, sondern aus der Schwierigkeit der Bazillen, aus dem umhüllenden Kot in die Blutbahn zu gelangen.

---

1) Aus späteren Versuchen geht hervor, dafs im Magen und Darm sich auch in der zweiten Hälfte des zweiten Tages nach der Fütterung noch einzelne Axb nachweisen lassen.

2) Wenn die an erwachsenen Meerschweinchen erhaltenen Resultate von Falck richtig sind, dafs der Magensaft die freien Axb tötet und nur einen Teil der freien Sporen unversehrt läfst, so würde sich also auch hieraus ein Unterschied zwischen der desinfizierenden Tätigkeit des Magens neugeborener und erwachsener Meerschweinchen ergeben.

**5. Reihe. 26. II. 1904.**

Dies ist der einzige Fütterungsversuch, wo aus augenblicklichem Mangel kein Meerschweinchen als Kontrolltier verwendet wurde. Die geimpfte Maus starb erst nach 4 Tagen; die benutzte Kultur hatte also aus einem unkontrollierbaren Grund an Virulenz abgenommen. Durch Züchtung aus dem Tierkörper war eine starke Virulenzsteigerung wieder möglich, es wurden aber doch die weiteren Experimente mit einem neuen Axb-Stamm vorgenommen. Der Vollständigkeit halber führe ich den Versuch hier an:

10. Junges $\gamma$ I, 105 g schwer, wenige Stunden alt, erhält stomachal 0,019 g sporenhaltiger Axb beigebracht. Es bleibt völlig gesund.

## II. Versuche mit dem Wiener Axb-Stamm.

Dieser Stamm tötete zu Beginn der Versuche eine Maus in 10—20 Stunden (über Nacht), ein Meerschweinchen in ungefähr einem Tag.

**6. Reihe. 24. V. 1904.**

Kultur 6 Stunden alt, völlig sporenfrei. Todeszeit des Kontrolltieres nicht genau festzustellen, da es nach etwas über 2 Tagen in stark fauligem Zustand aufgefunden wird. Mikroskopische und kulturelle Untersuchung ergibt in Milz, Leber, Herzblut Axb und Bac. sërogenes.

Alter der gefütterten Tiere 24 Stunden.

11. Junges p I, 90 g schwer, erhält 0,333 g Axb per os, also eine ganz aufserordentliche Menge.

Nun wollte ich es mir nicht daran genügen lassen, einfach zu beobachten, ob die Tiere sterben oder nicht, sondern in diesem und dem folgenden Fall verfolgte ich die Absicht, kurze Zeit nach der Fütterung, im Blut und in den Organen nachzusehen, ob sich dort nicht einzelne Axb durch genaue bakteriologische Untersuchung nachweisen liefsen. Hierbei war vor allem eine Gefahr zu vermeiden, dafs nämlich die herauszunehmenden Organe resp. die anzulegenden Kulturen durch Milzbrandbazillen, die aus dem Kote stammten und mit diesem an den Körperhaaren klebten, verunreinigt würden. Ich wandte deshalb die im folgenden beschriebene Technik an: das auf das Operationsbrett aufgespannte Tier wurde so tief narkotisiert, dafs jegliche

Schmerzempfindung sicher geschwunden war.[1]) Dann wurde es an Bauch-, Brust- und Halshaut rasiert, hierauf mit Seife, Alkohol, Äther und Sublimatalkohol sorgfältig desinfiziert. Nun wurde die Brusthaut nach beiden Seiten hin abpräpariert und (mit immer neuen Instrumenten) die Brusthöhle durch Abtragung der gesamten vorderen Brustwand breit eröffnet. Der Herzbeutel wurde aufgeschnitten und nun mit einer gutschliefsenden Pravazspritze Blut direkt aus dem Herzen angesaugt. Wenn hierdurch keine genügende Menge erhalten werden konnte, so war auch nach dem Anschneiden des Herzens in die Brusthöhle ausgeflossenes Blut leicht aufzusaugen und zur Untersuchung benutzbar.

Nach der Blutentnahme völlige Tötung des Tieres und nun, unter stetigem Wechseln der Instrumente, Obduktion unter allen Kautelen.

Im vorliegenden Fall, wo Blutentnahme und Obduktion nach 17 ¾ Stunden vorgenommen wurden, waren Organveränderungen nicht nachweisbar.

Ausstrichpräparate vom Mageninhalt ergaben: Charakteristische Axb in geringer Anzahl (viele Gesichtsfelder frei), meist mehrere Exemplare beisammen. Im Prozessus-Inhalt fanden sich noch ziemlich viele Axb, auch zumeist zu mehreren Exemplaren beisammenliegend.

Quetschpräparate von Mesenterialdrüse, Milz und Leber (mit dem Pistill angefertigt) zeigten keine Axb.

Bouillonkulturen von den im Mörser zerquetschten Prozessusdrüsen, von Milz, von Leber, sowie die von ihnen nach 3 Tagen gegossenen Agarplatten ergaben keine Milzbrandbazillen.

¾ ccm des aus dem Herzen gewonnenen Blutes wurden mit gleich viel Bouillon vermischt, später wurde mit dieser ganzen Flüssigkeit eine Agarplatte gegossen: sie blieb steril.

Agarplatten, direkt angelegt von Leber und Milz, zeigten ebenfalls völliges Freisein von Axb.

Platten, angelegt aus Magen- und Cöcalinhalt, ergaben zahlreiche resp. mäfsig viele Axb-Kolonien.

Während also im Magen und Darm sowohl mikroskopisch wie kulturell noch Milzbrandbazillen sich

1) Der Versuch war mir sehr unangenehm. Indes fehlte dem Tier sicher jede Empfindung, und es wurde sofort nach der Blutentnahme zu Tode narkotisiert. Auf andere Weise war eine zweifelsfreie reichliche Blutentnahme nicht zu bewerkstelligen.

fanden, konnten im Blut, den inneren Organen und Darmdrüsen bei reichlich verarbeitetem Material keine solchen nachgewiesen werden.

Ich versuchte nun, ob vielleicht ein Durchtreten oder Durchwachsen der Bazillen durch die Magenwand — wie von Behring es beschreibt — durch histologische Untersuchung sich zeigen lasse. Ein grofser Teil des Magens wurde in Serienschnitte zerlegt.

Es konnte aber nirgends ein Durchtritt der Axb beobachtet werden.

12. Junges n I, 100 g schwer, erhält per os 0,022 g Axb. Nach 41¾ Stunden wird es auf dieselbe Weise getötet wie p I, die Organe werden auf die gleiche Art verarbeitet.

Ausstrichpräparate aus dem Mageninhalt: Keine sichern Axb

Ausstrichpräparate aus dem Prozessualnhalt: Wenige Exemplare von Axb.

Quetschpräparate aus Milz, Leber und Mesenterialdrüse: Keine Axb.

Bouillonkulturen von Prozessusdrüse (die ganze Drüse verarbeitet) Leber (⅘ des ganzen Organs verwendet) und Milz (das halbe Organ verwendet) zeigen bei tagelanger Beobachtung kein Wachstum von Axb, ebensowenig eine Reihe nach 4 Tagen von ihnen ausgesäter Agarplatten.

Agarplatten direkt angelegt aus 1 ccm Herzblut (mit Bouillon verdünnt), Leber und Milz ergeben gleichfalls ein negatives Resultat.

Aus einer grofsen Öse vom Mageninhalt konnten auf Agarplatten noch zwei Axb-Kolonien gezüchtet werden, vom Cökalinhalt eine mäfsige Anzahl von solchen.

Der ganze Magen wurde in 6 Teile zerlegt, und nach der Härtung in Alkohol wurden dieselben zu Schnittserien verarbeitet. Ein Teil diente (wie bei dem vorigen Tier) zur Dissefärbung[1]), der andere Teil wurde auf Bakterien untersucht. Im ganzen waren es gegen 2000 Schnitte. Bei sorgfältigstem Durchsuchen finden sich nur an einigen Stellen mitten unter Resten von Gras oder Heu im Lumen des Magens einige Milzbrandbazillen. Schleimhaut, Submucosa und dem Magen anliegendes kleines Lymphknötchen sind völlig frei von ihnen.

13. Junges n II, 110 g schwer, erhält per os 0,028 g Axb. Es bleibt im weiteren Verlauf völlig gesund.

---

1) Vergl. Anhang II.

### 7. Reihe.

Von jetzt ab machte sich bei dem Wiener Milzbrandbazillus eine Erscheinung geltend, die bereits beim ersten nach einer Reihe von Tierpassagen unangenehm aufgefallen war, nämlich das ungemein rasche Auftreten freier Sporen. Wollte man zur Verfütterung genügende Mengen Axb erlangen, so konnte man nicht leicht unter 5 Stunden alte Agarkulturen benützen. Es zeigten sich aber schon in dieser Zeit freie Sporen. Das Protokoll über die 7. Reihe sagt wörtlich[1]): »In einer grofsen Anzahl von Fäden finden sich (nach 5 Stunden) bereits die Sporen gebildet, ja es liegt schon eine geringe Anzahl von Sporen einzeln da, zum Teil mit einem geringen, noch färbbaren Mantel umgeben, ein ganz kleiner Teil liegt schon völlig frei da. Trotzdem wird ein Fütterungsversuch unternommen.«

1. VI. 1904.

Kontrolltier starb nach ca. 24 Stunden. Typischer Milzbrandbefund. Bei der Fütterung waren die Tiere sI und rI etwas über 1 Tag, die Tiere Alt I, Alt II, Alt III etwae über 3 Tage alt.

14. Junges sI, 90 g schwer, erhält per os 0,01 g dieser schwach zporenhaltigen Axb.

Es bleibt völlig gesund.

15. Junges »Alt I«, Gewicht 80 g, erhält per os 0,008 g Axb der gleichen Kultur.

Am 3. VI., also 37 Stunden nach der Fütterung, stirbt das Tier.

Die Obduktion ergibt grofse, blutreiche, rothraune Milz. In Milz aufserordentlich zahlreiche, in Leber viele, im Herzblut eine Anzahl Axb. Im Mageninhalt keine, im Prozessusinhalt einige Axb. Der Magendarmkanal ist frei von Veränderungen.

Hier also, bei einem mit sporenhaltigen Axb gefütterten Tier, haben wir einen echten Milzbrandtod.

16. und 17. Junge »Alt II und III«, Geschwister des Vorigen, 90 und 100 g schwer, mit je 0,01 g der gleichen Axb gefüttert, bleiben völlig gesund.

---

1) Ich brauche wohl nicht zu versichern, dafs diese Befunde — für die alle ich übrigens Testpräparate aufbewahrt habe — sofort niedergeschrieben wurden, also rein objektive Beobachtungen, unbeeinflufst vom Ausgang des Experimentes, darstellen.

18. Junges r I, 70 g schwer, erhält per os 3 Glasösen einer alten im Eisschrank aufbewahrten, stark versporten Axb-Kultur (eben von der, von welcher die zu den vorstehenden Fütterungen benutzten Kulturen angelegt waren). Während ein damit geimpftes Kontrolltier rasch an Milzbrand starb, blieb dies Tierchen völlig gesund.

### 8. Reihe. 4. VI. 1904.

Diesmal waren die Axb-Kulturen nur $3^1/_2$ Stunden bei 37° gewachsen. Sie zeigten im Präparat »schön ausgebildete Axb-Fäden, dazwischen liegend noch Sporen (von den eingesäten), z. T. auskeimende Formen. In den neuen Axb aber noch keinerlei Beginn der Sporenbildung.«[1])

Das Kontrolltier starb nach etwas über 1 Tag (typischer Milzbrandtod).

Die am ersten Lebenstage gefütterten Jungen erhielten jedes die Oberfläche von drei Schrägagarkulturen. Eine Wägung der Mengen wurde nicht vorgenommen.

»Bei der Fütterung sträuben sich beide Tiere stark, so dafs vielleicht kleine Verletzungen mit der Glasöse vorgekommen sein können, besonders beim Herausziehen, wo sie von den Zähnen festgehalten wurde. Keine Blutung.«[1])

19. Junges »Jung II«, Gewicht 60 g, bleibt nach der Fütterung völlig gesund.

20. Junges »Jung III«, Gewicht 80 g, wird am 7. VI. morgens, nachdem es am vorhergehenden Tag noch völlig mobil war, tot und völlig eventeriert aufgefunden. Es ist nicht zu konstatieren, wann der Tod eingetreten ist. In der Muskulatur finden sich spärliche Axb.

### 9. Reihe. 7. VI. 1904.

Die verwendete Kultur war $3^3/_4$ Stunden alt, enthielt noch viele eingesäte, aber keine neuen Sporen. »Die mit eingesäten Sporen finden sich an den Stellen, wo das Impfmaterial dick aufgetragen ist, so dafs dort weifsliche Massen vorhanden sind, während Abstriche von den Stellen, auf denen nur die zarten, frisch gewachsenen Bazillen zu sehen sind, auch keine Sporen mehr enthalten.«

Das Kontrolltier starb nach weniger als 24 Stunden (typischer Axb-Befund). Die gefütterten Tierchen waren $1^1/_2$ Tage alt, wogen 50, 50 und 70 g.

1) Vgl. die Fufsnote der 7. Reihe.

21., 22. und 23. Alle drei Tierchen (c II, c III, d I) erhielten je 0,1 g Axb per os nach 5stündigem Hungern. Sie blieben völlig gesund.

### 10. Reihe. 7. VI. 1904.

Gleichzeitig mit dem vorigen Versuch wurde eine Verfütterung einer reich versporten über 8 Tage im Eisschrank aufbewahrten Axb-Kultur vorgenommen.

Während das Kontrolltier in weniger als 24 Stunden starb, blieben

24., 25. und 26. die Tierchen e I, e II und e III, 40, 50 und 55 g schwer, 1½ Tage alt, gefüttert mit je 0,033 g Axb, am Leben.

### 11. Reihe. 9. VI. 1904.

Einen letzten Versuch nahm ich schliefslich mit einer 24 Stunden alten Agarkultur vor, welche von der Kultur stammte, mit der die 9. Reihe behandelt wurde.

»Es sind schöne Fäden, die zum grofsen Teil versport sind. Ganz aufserordentlich viel freie Sporen.«

Ein Kontrollversuch ist hierbei nicht vorgenommen.

Die Tierchen waren wenige Stunden alt.

27. Junges t III, 60 g schwer, erhält 0,1 g dieser Kultur per os, bleibt völlig gesund.

28. Junges t IV, 65 g schwer, erhält 0,033 g der gleichen Kultur, stirbt nach 3 Tagen. Die Obduktion und mikroskopische Untersuchung ergibt typischen Milzbrandbefund.

Ziehen wir in Kürze das Fazit aus diesen Milzbrandversuchen, so sehen wir, dafs auch die Verfütterung sehr grofser Mengen des Axb ohne jeglichen Nachteil für das neugeborene Meerschweinchen vorgenommen werden kann. Von den 28 gefütterten jungen Tieren sind 3 an typischem Milzbrand gestorben. Alle drei hatten sporenhaltige Kulturen erhalten. Wie die Protokolle ergeben, waren bei Tier 15 und 28 neugebildete freie Sporen vorhanden, die für Fall 28 verwendete Kultur zeigte sogar aufserordentlich zahlreiche Dauerformen, die 11. Reihe war nämlich direkt als Sporenfütterung gedacht. Beim dritten Tier (20) waren bei der Fütterung infolge des Sträubens vorgekommene Verletzungen wahrscheinlich, die benutzte Kultur enthielt noch von den eingesäten Sporen.

Selbst dieser sporenhaltige Axb konnte aber nicht bei allen Versuchstieren den Tod herbeiführen, da selbst mit gröfseren Mengen als die gestorbenen Tiere gefütterte Geschwister gesund blieben — es waren vermutlich auch hier minimale Verletzungen die Vorbedingung zum Eindringen der Sporen in den Intestinaltrakt. Solche kleinste Wunden können ja leicht durch scharfe Grashalme oder andere Bestandteile der Nahrung hervorgebracht werden.

Somit bietet der Tod dieser drei Versuchstiere gar nichts Auffallendes. Ist uns ja doch aus einer reichen Literatur bekannt, dafs auch alte Meerschweinchen sterben können, wenn versporte Milzbrandbazillen an sie verfüttert werden. —

Wie die aufserordentlichen Differenzen zwischen den Behring-Muchschen Resultaten und den meinigen zu erklären sind, will ich dahingestellt sein lassen, auf einen Punkt möchte ich aber doch hinweisen.

v. Behring schildert in Heft 8 seiner Beiträge die angewandte Fütterungstechnik: »Bei zurückgebogener Kopfhaltung lassen wir tropfenweise die Flüssigkeit in das weitgeöffnete Maul auf die Zungenwurzel fallen.« Nach diesen Worten scheinen die Autoren beim Öffnen des Maules ihrer Versuchstiere irgend welche Gewalt gebraucht zu haben, da unter normalen Bedingungen von einem »weit geöffneten Maul« nicht die Rede sein kann. Hierbei sind wahrscheinlich kleine Verletzungen der Mundschleimhaut entstanden, durch welche dann die Infektion leicht vor sich gehen konnte. Bei grofseu Tieren, die ein starkes und resistentes Pflasterepithel der Mundhöhle haben, darf man solche Manipulationen viel eher riskieren, ohne Verletzungen befürchten zu müssen. —

Als ich die Ehre hatte, im Februar dieses Jahres Exzellenz von Behring einen grofsen Teil meiner Resultate zu demonstrieren, machte er mir den Einwand, meine Milzbrandbazillen seien wohl für Meerschweinchen pathogen gewesen, ob aber für Kaninchen, das sei zweifelhaft. Die von ihm benutzten Bazillen seien teilweise auch Kaninchen-pathogen und ein Vergleich zwischen unseren Stämmen ginge nicht an, da die Kaninchen-tötenden Axb

höhere Virulenz besäfsen wie die nur für Meerschweinchen pathogenen. Ich nahm sofort mit meinem Wiener Milzbrandbazillus, den ich noch zur Hand hatte, das entsprechende Experiment vor.

21. II. 1905. Kaninchen, 3500 g schwer, mit kleiner Öse am Rücken infiziert. Tod nach 4½ Tagen. Obduktion ergibt typischen Milzbrandbefund. In Leber und Milz massenhafte Axb, im Herzblut aufserordentlich viele Bazillen. Aus allen Organen werden Axb in Reinkultur gezüchtet.

Somit zeigte sich also auch dieser Stamm als exquisiter Kaninchentöter.

Ich führte den Versuch, dem Wunsche von Exzellenz v. Behring folgend, aus, ich mufs aber sagen, dafs für ein Experiment am Meerschweinchen nach meiner Auffassung auch ein solcher Bazillus genügt hätte, dessen Pathogenität eben für dieses Tier nachgewiesen war. (Hierzu bitte ich den oben zitierten Versuch 5 von Behring-Much nachzulesen.)

Nachschrift: Durch das gütige Entgegenkommen von Exzellenz v. Behring konnte ich in letzter Zeit übrigens auch noch eine Versuchsreihe mit einem seiner Kaninchen-pathogenen Axb-Stämme (I) vornehmen. Ich verfütterte eine Kultur, die noch keine freien Sporen enthielt, aber schon aufserordentlich viele eben noch von schmalem Protoplasmasaum umgebene Sporen (25 Stunden bei 22° auf Agar gewachsen). Diese Kultur, in Bouillon gebracht und bei 80° über eine halbe Stunde im Wasserbad gehalten, zeigte im Brutofen noch starkes Wachstum; es hatten demnach die mit dem Protoplasmasaum umhüllten Sporen schon eine aufserordentliche Resistenz. Das am 19. VI. 1905 mit kleinster Platinöse geimpfte Kontrolltier (♀♀ I) starb nach 32—36 Stunden an Milzbrand. 6 neugeborene Meerschweinchen (zwischen 70 und 85 g schwer, 1½—3½ Tage alt), gleichzeitig mit je 0,1 g Axb, suspendiert in je 1 ccm Kubmilch [also ganz nach v. Behrings Anordnung] gefüttert, blieben völlig gesund.

## Versuche mit Tuberkelbazillen.

Die folgenden Experimente gehören dem Gebiet der Fütterungstuberkulose an.

Ich kann hier aber um so eher absehen von einem historischen Überblick über die Literatur derselben, weil bei Neugeborenen Fütterungen mit dem Tuberkelbazillus oder Produkten der Tuberkulose aufser von v. Behring bisher nicht vorgenommen wurden. Erwähnen will ich nur, dafs die ersten positiven Fütterungsversuche an erwachsenen Tieren schon 1868 publiziert sind (Chauveau ev. auch Klebs), und dafs die Infektion des Meerschweinchens vom Darmkanal aus Parrot zum erstenmal gelungen ist.

Gute Zusammenstellungen über die Fütterungstuberkulose findet man in den Arbeiten von Spina, Johne, Biedert, Wesener und ganz neuerdings bei Nebelthau.

v. Behring selbst hat seine Versuche an neugeborenen Tieren noch nicht ausführlich veröffentlicht, die bisher allein erschienene Übersicht über seine Ergebnisse habe ich in der Einleitung angeführt. Meine eigenen Versuche, im ganzen 40, wurden vorgenommen mit einem seit längerer Zeit im hygienischen Institut fortgezüchteten, vom Menschen stammenden Tuberkelbazillus.

Die Prüfung desselben geschah nach der von Kossel und seinen Mitarbeitern im Reichsgesundheitsamt zur Unterscheidung zwischen Typus bovinus und humanus ausgearbeiteten Methode (Trocknung der Bazillen auf sterilem Fliefspapier. Wägung von 0,01 g Bazillen auf tariertem sterilisiertem Uhrschälchen. Verreiben mit 1,0 phys. Kochsalzlösung in sterilem Mörser. Injektion ohne Verletzung der Fascie) an einem 2480 g schweren Kaninchen. Als der Tod nach 11 Wochen an einer interkurrenten Lungenerkrankung erfolgt war (auch mikroskopisch als nicht tuberkulös identifiziert), zeigte sich an der Injektionsstelle im subkutanen Bindegewebe ein haselnufsgrofser Tumor, der sich beim Aufschneiden als ein mit weifsgelblichem dickem

rahmigem Eiter gefüllter Abszefs erwies. Sonst nirgends eine Spur von Tuberkulose.

Nach intraperitonealer Injektion von ungefähr 0,01 g der Bazillenreinkultur, aufgeschwemmt in Bouillon, starb ein 450 g schweres Meerschweinchen ♀ nach 20 Tagen, ein 420 g schweres Meerschweinchen ♂ nach 27 Tagen. Die verfütterten Kulturen waren stets zwischen 4 und 6 Wochen alt. Das Gewicht der zur Fütterung benutzten Mengen wurde durch die chemische Wage bestimmt. Zu Anfang verrieb ich die abgewogenen Bazillenhäute sorgfältig in Bouillon und nahm darnach die Verfütterung mittels Pipette vor. Als sich aber herausstellte, dafs bei einer Aufnahme der Tuberkelbazillen[1]) durch Vermittelung von Flüssigkeit leicht eine Aspiration vorkommt, ein Umstand, der die Deutung der Experimente wesentlich erschweren kann, so ging ich dazu über, die von der Glyzerinbouillon abgehobenen Tb-Häute mittels meiner Glasöse den Meerschweinchen in das Maul einzuführen. Mit beiden Methoden gelang es schnell, die gewünschte Dosis den jungen Tieren beizubringen.

Von meinen 40 Versuchen sind 26 mit Bazillenaufschwemmung in Bouillon vorgenommen. Das erste Versuchstier (♂ I) starb au Aspiration, 4 Meerschweincheu waren alte Muttertiere. Somit enthält diese 1. Reihe 21 Verfütterungen au neugeborene Meerschweinchen. Die 2. Reihe, in der die Tb den jungen Tieren nur trocken beigebracht wurden, enthält demnach 14 Versuche.

Ich begnügte mich nicht damit, die Tiere nach längerer oder kürzerer Zeit zu obduzieren, sondern untersuchte jede nicht ganz gewöhnliche Erscheinung histologisch und vor allem nahm ich bei den Organen, wo makroskopisch die Diagnose nicht mit Sicherheit zu stellen war, genaue Untersuchungen fast ausnahmslos an Serienschnitten vor.[2]) Frühzeitig nach der Fütterung war

1) Ich werde zur Erleichterung künftig hierfür die Bezeichnung Th gebrauchen.

2) Für oftmalige Prüfungen meiner makro- und mikroskopischen Befunde will ich nicht versäumen, meinem Mitarbeiter am Institut, Herrn Privatdozenten der Pathologie, Dr. Robert Rössle aus Kiel, auch an dieser Stelle den herzlichsten Dank auszusprechen.

es zumeist nicht möglich, in den Drüsen die Tb in Schnitten resp. in Quetschpräparaten nachzuweisen. Ich überimpfte deshalb eine grofse Reihe von Drüsen, auch Blut, an weitere Meerschweinchen. Diese Versuche haben so eigenartige und bemerkenswerte Resultate ergeben, dafs ihnen ein eigenes Kapitel (»Die Knötchenlunge«) gewidmet werden mufs.

In dem Folgenden gebe ich eine kurze Darstellung der Fütterungsergebnisse. Die weite Ausdehnung meiner Arbeit gestattet mir nicht, jedes einzelne Obduktionsprotokoll in extenso abzudrucken; ich erwähne deshalb nur die wichtigen Befunde und behalte mir eine ausführlichere Veröffentlichung vor, falls sie aus irgend welchen Gründen noch nötig erscheint.

Zum Verständnis der Protokolle will ich bemerken, dafs unter Halsdrüsen die submentalen und Halsdrüsen gemeint sind, und dafs ich zwischen beiden nur ausdrücklich dann unterschieden habe, wenn sie sich verschieden verhielten. Als Leberhilusdrüse habe ich ein (oder mehrere) Drüschen bezeichnet, die nahe dem Pylorus im Bindegewebe des Leberhilus liegen und sehr häufig tuberkulöse Veränderungen zeigten. Als Prozessusdrüsen ist jene Gruppe von ziemlich grofsen Drüsen angeführt, die einen Teil der zuführenden Lymphgefäfse vom Prozessus vermiformis aus beziehen. Sie stehen aber auch mit anderen Darmpartien in Verbindung. Cöcaldrüse ist die kleine Drüse genannt, die an der Einmündungsstelle des Ileum in das Cöcum liegt. Alle anderen Benennungen sind leicht verständlich. Die sehr häufig vorgenommenen Wägungen der Tiere habe ich hier weggelassen, da durch oftmalige Schwangerschaften (ich war gezwungen, jegliches Tiermaterial zur Züchtung der für die Experimente notwendigen Jungen zu benutzen) und Futterwechsel ziemlich jähe Gewichtsschwankungen entstanden. Im übrigen zeigten sich bedeutendere Gewichtsabnahmen nur bei sehr stark fortgeschrittenen tuberkulösen Prozessen. Die einzelnen Tiere sind in der Reihenfolge angeführt, die ihrer Lebenszeit nach der Fütterung entspricht.

## I. Reihe. Verfütterung der Tb in Bouillon.

1. 30. IV. 1904. Junges r II, 50 g schwer, 22 Stnnden alt, erhält 0,0028 g Tb.[1]) Getötet nach 87 Tagen.

Obdnktion: Überall normaler Befund. Nur die Prozessusdrüsen etwas gelblich verfärbt, vielleicht leicht getrübt. An der linken Tonsille eine ganz kleine gelbliche Einlagerung.

Mikroskopisch: Prozessnsdrüse enthält ganz kleine Epitheloidzellentuberkel, erst nach außerordentlich langem Snchen gelingt der Nachweis weniger zweifelloser Tb in der Mitte eines solchen Tuberkels.

Tonsille: Zwei Serien von nahezu 400 Schnitten ergeben keine pathologischen Veränderungen.

Resultat: Isolierte Tnberknlose der Prozessnsdrüsen.

2. 30. IV. 1904. Junges $\mu$ II, 65 g schwer, 1 Tag 6 Stunden alt, erhält 0,0042 g Tb. Getötet nach 86 Tagen.

Obdnktion: Nirgends eine Spnr von Tnberknlose. Nur die Prozessus drüsen erscheinen wenig vergrößert (nnterlinsengroß), fast ganz dnrchsichtig An einigen Stellen scheinen aber kleinste weißliche Herdchen zu liegen.

Mikroskopisch (über 100 Schnitte): Die Prozessnsdrüse zeigt eine ganz auffallende Tätigkeit. Neben den vorwiegenden völlig normalen Stellen finden sich an manchen Orten Anhäufnngen von großen aufgeblasenen, völlig den epitheloiden gleichenden Zellen. Dabei sind dentlich Teilnngsvorgänge (große Mitosen) in geringer Zahl sichtbar. An manchen Stellen sieht man schlechte Zellteilungen nach offenbar rasch erfolgten Kernteilnngen so daß Bilder entstehen, die an Riesenzellen erinnern, denen aber deren dentliche Protoplasma-Umgrenznng fehlt. Überhaupt sind an manchen Stellen die Kern- nnd Zellgrenzen undeutlich. Nach sehr langem Suchen gelingt die Entdecknng eines ganz zweifellosen Tnberkelbazillus.

Resultat: Isolierte Tnberknlose der Prozessusdrüsen.

3. 14. V. 1904. Junges $\varrho$ III, Gewicht 80 g, 2 Tage alt, erhält 0,021 g Tb (in nur $^1/_2$ ccm Bonillon). Getötet nach 75 Tagen.

Obduktion: Zahlreiche graue Miliartuberkel in Leber nnd Milz. Eine Leberhilnsdrüse ist fast erbsengroß, stark getrübt, aber noch ohne Spur von Verkäsnng. Eine der Prozessusdrüsen zeigt vielleicht eine geringe Trübnng, ist aber nnvergrößert. Drei Halsdrüsen sind stark vergrößert (über Erbsengröße), sehr derb, enthalten im Innern mit gelblichem Käse erfüllte Höhlen. Die Trachealdrüsen sind um ein Geringes vergrößert, schwach getrübt, zu beiden Seiten in der Clavicnlargegend je eine vergrößerte Drüse. Besonders ist die rechtsseitige fast erbsengroß, stark getrübt, mit zahlreichen weißlichen Nekroseherdchen. Sie liegt in der Gegend der Einmündung des Dnct. thoracicus in die V. subclavia.

1) So kleine Tb-Mengen wurden nicht direkt abgewogen, sondern erst nach der Anfschwemmnng einer größeren Tb-Quantität in einem abgemessenen Volnmen Bouillon dnrch Wegnahme kleiner Bonillonmengen bestimmt.

In der Lunge grau durchscheinende Tuberkel, im rechten Oberlappen gelatinöse Pneumonie.

Resultat: Jedenfalls gleichzeitige Infektion der Hals- und Leberhilusdrüsen. Einbruch in die Bluthahn durch den Ductus thoracicus.

4. 14. V. 1904. Junges ♀ II, 80 g schwer, 2 Tage alt, erhält 0,021 g Tb (in $^1/_8$ ccm Bouillon). Getötet nach 74 Tagen.

Obduktion: Leberhilusdrüse stark vergrößert (= 2 Linsen), derb, stark getrübt, mit kleinen Nekroseherdchen. Prozessus- und Cöcaldrüsen bis haselnußkerngroß, stark getrübt, die meisten enthalten mit einem käsigen Brei angefüllte Cavernen Die zu den übrigen Darmabschnitten gehörigen Drüsen ebenfalls tuberkulös verändert. Allea Übrige normal.

Resultat: Isolierte Tuberkulose der Lymphdrüsen des Darmes, wahrscheinlich beginnend in den Prozessusdrüsen.

5. 7. V. 1904. Junges ♂ II, 80 g schwer, $1^1/_2$ Tage alt, erhält 0,028 g Tb. Getötet nach 72 Tagen.

Obduktion: Halsdrüsen außerordentlich stark vergrößert, einzelne mehr als zweimal erbsengroß, verkäst, mit linsengroßen Erweichungsherden. Eine Prozessusdrüse, nicht vergrößert, möglicherweise leicht getrübt.

Mikroskopisch: Prozessusdrüse zeigt sich frei von Tuberkulose.

Resultat: Isolierte Halsdrüsentuberkulose.

6. 17. III. 1904. Junges ♂ II, 70 g schwer, 8 Stunden alt, erhält 0,105 g Tb. Spontan gestorben nach 50 Tagen. Vor dem Tod Lähmung der Hinterbeine.

Obduktion: Sehr verbreitete Tuberkulose, am größten die Lungen-hilus- und Trachealdrüsen.

Resultat: Fütterungstuberkulose. Erster Infektionssitz nicht mehr festzustellen.

7. 21. III. 1904. Junges ♂ I, 110 g schwer, 2 Tage alt, erhält 0,273 g Tb Getötet nach 49 Tagen.

Resultat: Das gleiche wie im vorigen Fall. Am größten die Halsdrüsen.

Bei diesem Tiere wurden Untersuchungen über die Ausscheidung der Tb mit dem Kot angestellt (Verarbeitung wie in den entsprechenden Axb-Versuchen). Während am ersten Tag außerordentlich viel Tb sich fanden (Häufchen wie Einzelexemplare), zeigten sich schon zweimal 24 Stunden nach der Fütterung nur noch ganz wenige Bazillen, die zumeist in kleine Schleimflöckchen eingehüllt waren. Nach dreimal 24 Stunden konnte in zwei sorgfältig durchsuchten Präparaten nur noch ein zweifelhafter Tb entdeckt werden. Demnach scheinen die Bazillen am Ende des dritten Tages bereits fast

völlig aus dem Darm eliminiert zu sein. Ein Versuch, die Virulenz der Tb nach der Passage des Intestinums festzustellen, mifslang, da das geimpfte Tier an Sepsis zugrunde ging.

8. 16. IV. 1904. Junges T III, 90 g schwer, $1^1/_2$ Tage alt, erhält 0,092 g Th. Getötet nach 35 Tagen.

Resultat: Vorgeschrittene Tuberkulose, am stärksten Prozessus- und Halsdrüsen. Erster Infektionssitz nicht mehr festzustellen.

9. 11. IV. 1904. Junges V II, 70 g schwer, zwischen 3 und 6 Stunden alt, erhält 0,188 g Tb. Getötet nach 32 Tagen.

Resultat: Weit vorgeschrittene Tuberkulose, am stärksten die Trachealdrüsen befallen. Erster Infektionssitz nicht mehr festzustellen.

10. 11. IV. 1904. Junges V I, 60 g schwer, zwischen 3 und 6 Stunden alt, erhält 0,171 g Tb. Getötet nach 30 Tagen.

Resultat: Hals-, Thorax-, und Abdominaldrüsen tuberkulös, weitaus am vorgeschrittensten die Halsdrüsen. Ein sicheres Urteil, wo der erste Infektionsort war, ist nicht mehr möglich, doch scheint der nach dem Abdomen zu abnehmenden Gröfse der Drüsen zufolge eine primäre Halsdrüseninfektion nicht unwahrscheinlich.

11. 30. IV. 1904. Junges ♀ I, 50 g schwer, 1 Tag alt, erhält 0,0024 g Th Getötet nach 28 Tagen.

Obduktion: Am Hals eine olivenkerngrofse Drüse mit zwei in Erweichung begriffenen Käseherden (submental); weiterhin eine über linsengrofse Drüse mit einem Käseherd im Innern. Kleiner Herd im rechten Unterlappen. Trachealdrüsen leicht vergröfsert, ganz wenig getrübt.

Die mikroskopische Untersuchung einiger zum Cöcum und Prozessus gehöriger Lymphdrüsen, bei denen makroskopisch die Diagnose zweifelhaft war, ergab Freisein von Tuberkulose.

Resultat: Primäre Halsdrüsentuberkulose.

12. 16. IV. 1904. Junges T II, 105 g schwer, $1^1/_2$ Tage alt, erhält 0,158 g Tb. Getötet nach 28 Tagen.

Obduktion: Ziemlich weit vorgeschrittene Tuberkulose. Am stärksten befallen beide submentalen Drüsen (über erbsengrofs, mit Kavernen von der Gröfse eines mittleren Schrotkornes). Die Prozessusdrüsen sind kleinerbsengrofs. Die übrigen Drüsen nehmen an Gröfse ihrer Entfernung von Submental- resp. Prozessusdrüse entsprechend ab. Frische Miliartuberkulose. Einbruch in die Bluthahn vermutlich von der stark veränderten rechten Claviculardrüse aus.

Mikroskopisch zeigt eine Prozessusdrüse sich durchsetzt von zahlreichen Tuberkeln, die reich an Riesenzellen sind, auch Th enthalten. Eine

Plaque des Prozessus vermiformis, in Serienschnitte zerlegt, bietet keine Veränderungen dar.

Resultat: Wegen des ziemlich vorgeschrittenen Prozesses ist der erste Infektionsort nicht sicher feststellbar, es erscheint aber nicht unwahrscheinlich, dafs gleichzeitige Infektion vom Hals und vom Prozessus aus stattgefunden hat.

13. 28. IV. 1904. Junges ♂ I, 70 g schwer, 2½ Tage alt, erhält 0,065 g Th. Getötet nach 18 Tagen.

Obduktion: Die Lunge zeigt zahlreiche miliare und etwas gröfsere durchscheinende graue Tuberkel. Zahlreiche alte Käseherde in beiden Lungen. Die Trachealdrüsen sind fast erbsengrofs mit alten Verkäsungen. Halsdrüsen wenig vergröfsert, schwach getrübt. Cöcal-, Prozessus-, Leberhilusdrüsen schwach vergröfsert, leicht getrübt. Frische Miliartuberkulose.

Resultat: Hier scheint eine Infektion der Lunge resp. Trachealdrüsen durch Aspiration bei der Fütterung wahrscheinlich. Die Tuberkulose der im Abdomen befindlichen Drüsen könnte vom Thorax aus fortgeleitet sein, könnte aber auch einer Infektion vom Darme aus entstammen.

14. 30. IV. 1904. Junges ♂ I, 60 g schwer, 1 Tag 6 Stunden alt, erhält 0,0042 g Tb. Getötet nach 17 Tagen.

Obduktion: Peritonitischer Prozefs, ca. 3 Tage alt, fortgeleitet auf die Pleura. Der rechte Mittellappen enthält an seiner Wurzel einen linsengrofsen, verkästen Herd, der gegen die Umgegend nicht völlig scharf abgegrenzt ist, durch dessen Mitte ein Lumen geht, dessen Ränder ebenfalls völlig verkäst sind. An der Trachea und um den rechten Hauptbronchus herum je eine linsengrofse, getrübte, schwach gelbliche Drüse. In der Thoraxapertur eine in gleichem Stadium befindliche, gleichgrofse Drüse. Am Hals eine Anzahl kaum kleinerer Drüsen von gleichem Aussehen.

Prozessusdrüsen gut linsengrofs, schwach gelblich, getrübt. Die übrigen zum Darm gehörigen Lymphdrüsen leicht vergröfsert und getrübt.

Mikroskopisch: Prozessus- wie Trachealdrüse zeigen deutliche Tuberkelbildung mit wenigen gut charakterisierten Th. Die Tonsille ist völlig normal.

Resultat: Die Tuberkulose der Lunge und der zugehörigen Drüsen ist offenbar durch Aspiration bei der Fütterung entstanden; die Affektion der Prozessusdrüsen ist möglicherweise gleichfalls direkter Infektion zu danken, nicht einer Fortleitung von der Brusthöhle aus (vgl. hierzu 1. und 2).

15. 17. III. 1904 Junges ♂ III, 70 g schwer, ca. 8 Stunden alt, erhält 0,159 g Th. Spontaner Tod nach 15 Tagen.

Obduktion: nicht vorgenommen (da ich verreist war). Vgl. die folgende Obduktion.

Bei diesem Meerschweinchen waren im Kote 20 Stunden nach der Fütterung in geringer Menge einzelne Tb nachzuweisen, aber keine Bazillenhäufchen mehr.

16. 16. IV. 1904. Junges T IV, 95 g schwer, $1^1/_2$ Tage alt, erhält 0,143 g Tb. Spontaner Tod nach 12 Tagen.

Obduktion: Starke Miliartuberkulose. Alle Drüsen stark geschwellt (Bild der Skrofulose). Verkäsungen zeigen eine Mesenterialdrüse, sowie ein kleines Knötchen am Ductus thoracicus.

Resultat: Der Tod 12 Tage nach der Fütterung (wie im vorigen leider nicht obduzierten Falle 15 Tage darnach) ist ganz auffallend. Er ist so schnell durch die schwere Miliartuberkulose herbeigeführt, die offenbar von dem am Ductus thoracicus sitzenden verkästen Knötchen aus entstanden ist. Aller Wahrscheinlichkeit nach bildet die verkäste Mesenterialdrüse den Sitz der ersten Infektion.

17—21. Die Jungen wurden in so frühem Stadium getötet, dafs eine makroskopische Diagnose nicht möglich war. Ihre Verarbeitung wird an späterer Stelle besprochen.

Überblicken wir kurz noch einmal die eben beschriebenen Versuche, so sehen wir regelmäfsig bei den neugeborenen Meerschweinchen, wenn sie lang genug am Leben gelassen wurden, der einmaligen Verfütterung von Tb eine Erkrankung an Tuberkulose folgen.

Am besten läfst sich die Wirkung der verfütterten Tb studieren, wenn mau nur geringe Mengen (0,002—0,005 g) derselben verabreicht. Dann ist es auch durchaus nicht notweudig, die Tiere verhältnismäfsig schnell darnach zu töten, sondern man kann sie Monate lang am Leben lassen. Die mit grofsen Tb-Dosen gefütterten Meerschweinchen (0,1 g und darüber) zeigen sehr bald eine vorgeschrittene Tuberkulose, die ein Urteil über den ersten Sitz der Erkrankung unmöglich macht. Unter besonders förderlichen Umständen verläuft die Tuberkulose ganz rapid, und so habeu wir in einem Fall schon den Tod 12 Tage nach der Fütterung eintreten sehen. Meines Wissens ist ein so schneller Verlauf der Fütterungstuberkulose bisher noch nicht beobachtet worden.[1]) Der Fall erscheint mir deshalb von ganz besonderer Wichtigkeit, weil er einen Fingerzeig dafür bietet, dafs nicht jede kurz nach der

1) Koch stellte fest, dafs der Tb ca. 14 Tage zu seinem Wachstum und seiner Vermehrung braucht, Orth und Semmer gaben eine zweimonatliche Inkubationszeit bei der Fütterungstuberkulose an und Bollinger notierte schon einen letalen Ausgang nach $1^1/_2$—2 Monaten.

Geburt tödlich endende Tuberkulose des menschlichen Säuglings als eine prägenital durch plazentare Übertragung entstandeue aufzufassen ist. Frühzeitige Affektion des Ductus thoracicus vermag eben durch das Ausstreuen grofser Tb-Mengen in die Blutbahn überraschend schnell zum Tode zu führen.

Bei der Verfütterung geringer Tb-Quantitäten (bis herab zu 0,0028 g) liefs sich die Infektionspforte an den Verdauungswegen deutlich feststellen. Es darf aber unter Verdauungswegen nicht allein der Magen und Darm verstanden werden, sondern auch die Mundhöhle bietet sehr günstige Verhältnisse für das Eindringen der Bazillen (eine Meinung, der nebenbei gesagt, Bollinger schon vor mehr als 30 Jahren Ausdruck gab). So haben wir zahlreiche Fälle, wo vom Darm, zumeist vom Processus vermiformis aus, die Erkrankung zustande gekommen ist. Die starke Beteiligung der Leberhilusdrüse läfst sogar an gelegentliche Infektion vom Magen aus denken; andere Fälle wieder weisen auf die Tonsillen als Eiutrittspforte hiu. Bei einigen Tieren, besonders wenn mittlere Tb-Quantitäten (0,02 g und darüber) gegeben wurden, hat eine gleichzeitige Infektion von der Mundhöhle wie vom Darm aus stattgefunden.

Eine Verschleierung der Ergebnisse wurde bei mehreren Beobachtungen dadurch herbeigeführt, dafs offenbar bei der Fütterung Flüssigkeitsmengen in die Lungen hinein aspiriert wurden, und dort sogleich eine Erkrankung der Lungen selbst oder der zunächst gelegenen Drüsen herbeigeführt haben (vielleicht an den Stellen, die nach Abrikosoff bei der Inhalationstuberkulose zuerst zu erkranken pflegen). Dafür, dafs der intestinalen Infektion zunächst ein Krankheitsbild folge, vergleichbar der menschlichen Skrofulose, wie v. Behring es schildert, hat sich kein Anhaltspunkt ergeben, vielmehr schien stets der erste Erkrankungsherd bei der Obduktion auch der am weitesten vorgeschrittene zu sein. Die isolierten Halsdrüsenerkrankungen, eingetreten nach Aufnahme ganz geringer Tb-Mengen, sprechen sehr dafür, dafs überall da, wo eine starke Affektion derselben zu finden ist, welche die übrigen Drüsenerkrankungen an Mächtigkeit übertrifft,

auch wirklich die Halsdrüsen der erste Sitz der Erkrankung gewesen sind. Keinesfalls dürfen wir annehmen, dafs sie erst von den Lymphdrüsen der Bauchhöhle aus infiziert worden sind, wo wir die beiden Gruppen erkrankt, aber die dazwischen liegenden Lymphdrüsen vollkommen intakt finden. Ich führe als Kronzeugen dieser Anschauung Cornet an, nach dessen an Tausenden von Tieren festgestellten Befunden die Ausbreitung der Tuberkulose schrittweise verfolgt werden kann, »indem die Drüsen von der Infektionspforte aus eine Kette an Gröfse sukzessiv abnehmender kugeliger oder bohnenförmiger Gebilde darstellen, deren Durchschnitte die Altersdifferenz des Prozesses deutlich zu erkennen geben.« Für beinahe alle Ergebnisse unserer Experimente lassen sich übrigens auch klinische und pathologisch-anatomische Erfahrungen am Menschen beibringen.[1])

**II. Reihe. Verfütterung der Tb in trockenem Zustande.**

Hier kommen 14 Versuche in Betracht, da aber bei 11 Tieren der Tod resp. die Tötung und Verarbeitung der Organe so früh erfolgte, dafs makroskopisch noch keine Veränderungen wahrnehmbar waren, habe ich zunächst nur vier Obduktionen zu schildern.

22. 17. V. 1904. Junges f II, 100 g schwer, ½ Tag alt, erhält 0,029 g Tb. Getötet nach 73 Tagen.

Resultat: Sehr weit vorgeschrittene Tuberkulose, die ein sicheres Urteil über den Primärsitz der Infektion nicht mehr ermöglicht.

23. 26. V. 1904. Junges q II, 70 g schwer, 1 Tag alt, erhält 0,005 g Tb. Getötet nach 68 Tagen.

Obduktion: Zwei Prozessusdrüsen, stark vergröfsert, die eine haselnufskerngrofs, mit starken Erweichungsherden im Innern. Im Jejunum, ganz besonders aber im Ileum, stark über das Schleimhautniveau prominierende Plaques, von denen einige in ihrer Mitte kleine, stecknadelknopfgrofse Verkäsungen tragen. Leberhilus- und Cöcaldrüse leicht vergröfsert und getrübt. Zwei Halsdrüsen über linsengrofs, mit kleinen käsigen Erweichungsherden im Innern. Trachealdrüse ebenfalls ungefähr auf das Doppelte vergröfsert, mit kleinem Erweichungsherd. Kleiner gelatinöser Herd im rechten Oberlappen.

1) Für den letzten Punkt (Doppel-Infektion) hat Ribbert neuerdings Material am Menschen gesammelt.

Mikroskopisch zeigt sich die Schleimhautoberfläche der tuberkulösen Darmpartien völlig intakt. Der Prozefs ist auf die Submucosa beschränkt und hat hier zur Bildung wohl charakterisierter Epithelialtuberkel geführt, die an einigen Stellen bereits zentral verkäsen. Th nicht auffindbar.

Resultat: Primäre Tuberkulose der Prozessusdrüsen, vielleicht gleichzeitige Infektion der Halsdrüsen. Für die Genese der Darmtuberkulose haben sich keine sicheren Anhaltspunkte ergeben. Von der Oberfläche der Schleimhaut ist sie nicht ausgegangen, sie hat sich vielmehr im Lymphapparat (der Submucosa) gebildet. Es mufs deshalb an einen retrograden Transport von den zuerst befallenen Lymphdrüsen aus gedacht werden. Die lange Zeit bis zum Beginn der Darmaffektion spricht wohl auch für diese indirekte Entstehung.

24. 24. V. 1904. Junges p III, 80 g schwer, erhält 0,005 g Th.
Getötet nach 67 Tagen.

Resultat: Fast völlig der gleiche Befund wie im vorigen Fall. Darmtuberkulose etwas weiter vorgeschritten, aber noch ohne Ulcera, ganz wenige Th in den verkästen Plaques.

25. 26. V. 1904. Junges N I, 80 g schwer, erhält 0,005 g Tb.
Getötet nach 16 Tagen.
Resultat: Isolierte Tuberkulose der Prozessusdrüsen.

Die Befunde an den mit trocken verabreichter Tb-Kultur gefütterten Neugeborenen stimmen völlig überein mit den bereits geschilderten. Aspiration in die Lungen mit ihren Folgen war dabei ausgeschlossen, dagegen zeigte sich bei zwei sehr spät (67 und 68 Tage nach der Fütterung) getöteten Tieren Darmtuberkulose. Da in den untersuchten Plaques, die makroskopisch nicht tuberkulös waren, weder in Quetschpräparaten noch in Schnitten Tb sich fanden, auch sonst keine pathologischen Veränderungen nachgewiesen werden konnten, so gewinnt der oben ausgesprochene Gedanke, nach welchem die Darmtuberkulose retrograd von den affizierten Lymphdrüsen aus entstanden ist, an Wahrscheinlichkeit.

Auf retrograde lymphogene Metastasen von Bakterien, Geschwulstzellen usw. hat übrigens in letzter Zeit Tendeloo in verschiedenen Veröffentlichungen aufmerksam gemacht. Buttersack ist für die retrograd entstehende Bildung von Darmgeschwüren eingetreten und Ribbert hat sich ebenfalls vor kurzem für den retrograden Transport der Tb durch den Lymph-

strom erklärt. Ich setze mich mit dieser Meinung in Widerspruch mit den experimentellen Ergebnissen Baumgarteus (dessen 40 Fütterungsversuchen ich aber die gleiche Anzahl entgegensetzen kann), erfreue mich dagegen der Übereinstimmung mit Orth, Wesener und Dobroklonsky.

Jedenfalls zeigen die immer wiederkehrenden Infektionen der Prozessus- und anderer zum Darm gehöriger Drüsen, ohne dafs der Darm selbst dabei erkrankt ist, dafs die Tb seine Schleimhaut mit Leichtigkeit passieren können. Tchistovitch hat dies beim Menschen früher auch schon mikroskopisch festgestellt. Die Tonsillen des Meerschweinchens verhalten sich in dieser Beziehung vollständig wie der Darm. Ich habe eine grofse Anzahl von ihnen in Serienschnitten untersucht, ohne auch nur einmal Tb oder irgend welche tuberkulöse Veränderungen auffinden zu können. Hier mufs ich einschalten, dafs die Tonsille des Meerschweinchens sich anatomisch ganz anders verhält wie die des Menschen. Zu meiner Verwunderung habe ich das gesuchte Follikelgewebe an keiner Stelle in ihr finden können, die Schnitte zeigen vielmehr kleine Drüsen, ganz ähnlich den Speicheldrüsen. Als mir immer wieder diese Befunde vorkamen, konnte ich nicht länger zweifeln, dafs sie für das Meerschweinchen typisch sind. In dem Lehrbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie der Wirbeltiere von Oppel allein fand ich später eine Bestätigung dieser Wahrnehmungen. Nach Oppel scheinen die Beobachtungen von Schmidt aus früherer Zeit mit den meinigen vollkommen übereinzustimmeu. Drews allerdings will auch in den Tonsillen des Meerschweinchens Mitosen-haltige Noduli gesehen haben. Trotz ihres differenten Baues ist aber offenbar der Meerschweinchen- und Menschentonsille doch die Durchgängigkeit für den Tb gemeinsam. Über die Tonsille (und den Pharynx) als Eingangspforte für die Tuberkulose beim Menschen liegen ja auch schon zahlreiche Arbeiten vor, von denen ich nur die letzten von Wassermann und Ito hier ausdrücklich erwähnen möchte.

Noch eine weitere Stelle der Mundhöhle hat man gleichfalls als Eintrittsstelle für die Tb beschuldigen wollen. Starck,

Körner und Partsch betonen nämlich die grofse Rolle der Zahncaries bei der Ätiologie der Halslymphome. Insbesondere Starck meint, dafs in Anbetracht des Umstandes, dafs nicht nur bei Phthisikern sondern auch bei sonst gesunden Leuten in kariöseu Zähnen Tb gefunden worden sind, die tuberkulösen Halslymphome vielfach von kariösen Zähnen her entstehen. Das positive Material, das die drei Autoren beibringen können, ist aber sehr klein. Das junge Meerschweinchen hat keine kariösen Zähne und doch erkranken seine Halslymphdrüsen so leicht an der Tuberkulose. Ich glaube darnach doch, dafs wir uns im allgemeinen lieber an die Durchgängigkeit der Rachenschleimhaut, vor allem der Tonsille halten sollen. Ganz besonders dürfen wir Kinderärzte aber Westenhöffer nicht zugeben, dafs die Zahnung es ist, welche für die Tuberkuloseinfektion im pathologisch veränderten Zahnfleisch (von dem man seit Kassowitz's vorzüglichem Buch nicht mehr sprechen sollte) durch Eröffnung zahlreicher Lymphgefäfse im Munde den Boden schafft. —

Ich lasse nunmehr die Protokolle der mit Bouillonaufschwemmungen gefütterten vier erwachsenen Tiere folgen. Zwischen 380 und 500 g schwer, erhielten sie je 0,151 g Tb, also eine Dosis, welche für die Neugeborenen bereits als eine sehr grofse zu gelten hat.

26. 3. V. 1904. Altes Meerschweinchen ♂, getötet nach 7 Monaten.

Obduktion: Prozessusdrüsen stark geschwellt, doppelerbsengrofs, aufserordentlich derb. Durchschnitt weifslich getrübt, in der Mitte gelbbräunlich. Keine Erweichung. In Leber und Milz ganz wenige graue miliare Tuberkel. Halsdrüsen erbsengrofs, derb, weifslich, mit kleinen gelben Nekroseherden auf dem Durchschnitt. Tracheal- und Bifurkationsdrüsen auf dem Durchschnitt ebenso, aber nur linsengrofs. In der Lunge nur wenige graue Miliartuberkel.

Resultat: Eine Doppelinfektion vom Hals und vom Prozessus aus kann in diesem Fall kaum zweifelhaft sein, wenn man die Gröfse und das Aussehen der einzelnen Drüsen als mafsgebend anerkennt.

27. 3. V. 1904. Altes Meerschweinchen ♀, spontan gestorben nach 5 Monaten.

Obduktion: Tod erfolgt an fibrinös-eitriger Peritonitis, Pleuritis, Pericarditis.

Fünf Halsdrüsen stark vergrößert, bis über Olivengröfse, mit allen Stadien der Tuberkulose bis zur Erweichung. Tuberkulose der intrathoracalen Drüsen. Lungenherdchen. Miliartuberkulose der Lunge, Leber, Milz. Abdomen ganz frei.

Resultat: Unzweifelhafte primäre Halsdrüsentuberkulose.

28. 3. V. 1904. Altes Meerschweinchen $\varphi$, getötet nach 92 Tagen.

Obduktion: Prozessusdrüsen gelblich, etwas über erbsengrofs, schwach getrübt. Eine Halsdrüse haselnufskerngrofs mit grofser Käsehöhle im Innern, andere Halsdrüsen schwach vergrößert. Trachealdrüse von normaler Größe, kaum getrübt.

Mikroskopisch: Prozessusdrüse zeigt gut ausgebildete Epitheloidzellentuberkel mit zahlreichen Riesenzellen. Es gelingt nicht, Tb nachzuweisen. Die Tuberkel sind aufserordentlich deutlich gegenüber der normalen Umgebung abgegrenzt.

Resultat: Gleichzeitige Infektion vom Prozessus und Hals aus.

29. 3. V. 1904. Altes Meerschweinchen $\chi$. getötet nach 29 Tagen.

Obduktion: Processusdrüsen doppelt erbsengrofs, stark getrübt. Im Innern weifslich-gelbliche Herdchen. Beginn der Verkäsung. Die übrigen zum Darm gehörigen Lymphdrüsen schwächer erkrankt Halsdrüsen etwas geschwellt, bis Linsengröfse, deutlich getrübt. Auf dem Durchschnitt kleine weifsliche Herdchen. Trachealdrüsen unter linsengrofs, schwach getrübt.

Resultat: Wahrscheinlich gleichzeitige Infektion vom Prozessus und Hals aus.

Diese an den vier Alten vorgenommenen Fütterungsversuche ergeben eine aufserordentliche Übereinstimmung mit denen der Neugeborenen. Die überaus langsam und gutartig verlaufenden Erkrankungsformen machen es zur Gewifsheit, dafs die verfütterte Dosis derjenigen nahekommt, mit welcher keine Infektion mehr zu erzielen ist und lassen anderseits vollgültige Rückschlüsse auf den Infektionsort zu. Auch hier sitzt wieder in einem Fall der Primärherd in den Halsdrüsen, und in den drei übrigen Fällen ist eine gleichzeitige Infektion von der Mundhöhle und vom Processus vermiformis aus kaum zu bezweifeln. Der Tb geht demnach ebensogut durch die Schleimhäute der alten wie der jungen Meerschweinchen hindurch, es handelt sich lediglich, dem verschiedenen Alter und der verschiedenen Schwere der Tiere entsprechend, um Unterschiede in der Gröfse der zur Infektion erforderlichen Dosen.

Es wird übrigens von Interesse sein, zu erfahren, dafs von der Darmwand des erwachsenen Meerschweinchens vor 30 Jahren

von Wesener eine Ansicht ausgesprochen wurde, die dem von Behring für die Neugeborenen aufgestellten Satz aufserordentlich nahekommt. Wesener sagt: »Es ist jedoch nicht aufser acht zu lassen, dafs wie den andern im Darmkanal enthaltenen zahlreichen Organismen, so auch den Tuberkelbazillen gegenüber die Darmwand vielleicht als Filter wirkt.« Also hier wie dort die Annahme, dafs der Darm den Bazillen gegenüber ein Filter vorstelle. Eine andere Auffassung liegt aber vielleicht näher.

Man rufe sich nur ins Gedächtnis zurück, wie unregelmäfsig in der Zeit vor der Entdeckung des Tb durch Robert Koch die Fütterungsversuche ausfielen.[1]) Als jedoch 1884 Baumgarten mit Tb (»aus gequetschten Tuberkelmassen«) versetzte Milch verabreichte, gelang es ihm stets, vom Intestinaltrakt ausgehende Tuberkulose zu erzielen. Es kommt also tatsächlich nur darauf an, dafs virulente Tb in genügender Menge[2]) verfüttert werden, um regelmäfsig bei alten wie jungen Meerschweinchen Tuberkulose zu erzielen. Bei diesem Sachverhalt scheint es vielmehr angemessen, sich zu erinnern, dafs in der Skala der Empfindlichkeit gegen den Tb diese Tierspezies obenan steht (v. Behring), und es liegt somit vielleicht der Gedanke nahe, dafs die Darmwand des Meerschweinchens eben in besonderer Weise durchlässig ist für den Tb, oder, um das, was mir vorschwebt, klarer auszudrücken: Je gröfser die natürliche Disposition[3])

1) Dabei waren, wie z. B. an Orths Experimenten nachgewiesen wurde, gerade an den positiven Resultaten oft genug Fehler in der Versuchsanordnung schuld (Verletzungen beim Kauen der verkalkten Perlsuchtmassen).

2) Nach unten hin dürften wir — wie aus den Protokollen zu ersehen — wie bei den erwachsenen, so auch bei den neugeborenen Meerschweinchen der Menge nahe gekommen sein, die bei einmaliger Verfütterung eben noch zur Infektion führt.

3) Allgemein hat Grawitz 1901 ausgesprochen, das Eindringen der Tb setze »Disposition« voraus, wie beispielsweise die Noma-Erreger besonders bei schwächlichen Kindern, die Gangränerreger beim Diabetiker. Weiterhin kann auf die von Perez gefundene wichtige Erscheinung hingewiesen werden, dafs Bakterien aus den Drüsen weniger empfänglicher Tiere rascher verschwinden als aus denjenigen der sehr empfänglichen Tiere.

einer Tierart für die Tuberkulose ist, desto weniger Schutzkraft vermag der Darm eben dieser Spezies gegen das Eindringen des Tb auszuüben.

Die völlig differenten Ergebnisse unserer Milzbrand- und Tuberkelbazillen-Versuche (die sicher nicht allein durch Resistenzunterschiede der Bakterien den Verdauungssäften gegenüber erklärt sind — Falck, Baumgarten, Fischer) weisen mit allem Nachdruck auf ein solches Gesetz hin.

Nachdem durch die vorausgehenden Untersuchungen festgestellt war:

1. dafs sich Fütterungstuberkulose auch nach einmaliger Verabreichung geringer Tb-Mengen regelmäfsig erzielen lasse, und nachdem

2. die gewöhnlichen Infektionspforten gefunden waren, galt es, durch frühzeitige Tötung nach der Fütterung, Untersuchungsmaterial zu sammeln über das Verhalten des frisch dem Magendarmschlauch einverleibten Tb den verschiedenen Geweben gegenüber. Hierüber mufsten uns belehren: anatomische Untersuchungen des Darmkanals selbst und der Tb-Nachweis im Blut und in den verschiedenen Lymphdrüsen des Körpers. Wo derselbe weder durch Quetsch- noch durch Schnittpräparate zu erzielen war, wurde zur Weiterverimpfung auf den Meerschweinchenkörper gegriffen. Gerade auf die Lymphdrüsen wandte ich deshalb mein Augenmerk, weil sie ja erfahrungsgemäfs in den Körper eingedrungene Mikroben zurückhalten, und weil aus den vorausgehenden Untersuchungen hervorging, dafs sie zuerst von der Tuberkulose befallen werden. Es lag sehr im Bereich der Wahrscheinlichkeit, dafs einzelne Tb aufserordentlich schnell in das Blut und die Lymphe übergehen könnten. Nicolas und Descos haben nämlich in 3 ganz kurzen Veröffentlichungen, denen leider keine genaue Schilderung der Experimente beigegeben ist, festgestellt, dafs sie schon 3 Stunden nach Verabreichung grofser Tb-Mengen einzelne Exemplare durch Färbung wie durch den Tierversuch im Ductus thoracicus nachweisen konnten. Es interessierte mich also besonders die Frage, ob in den Drüsen frühzeitig Tb zu finden seien und wenn ja, ob die eingedrungenen

Bazillen immer eine Drüsentuberkulose verursachen konnten, oder aber ob es für sie ein gewisses Latenzstadium gibt (wie v. Behring es annimmt), oder ob sie von den Drüsen abgetötet werden können. Auf die letztere Möglichkeit wiesen vor allem die wechselnden Obduktionsbefunde hin, die bald eine Infektion der einen, bald der anderen Lymphdrüsengruppe des Körpers, bald mehrerer gleichzeitig ergeben hatten. Das erregte eben den Verdacht, dafs die Tb wohl in die Drüse leicht eindringen können, dafs es aber dann von äufseren Verhältnissen, vielleicht am meisten von der Anzahl der Bazillen abhängig sei, ob die Drüse ihrer Herr werde oder umgekehrt.

Ich lasse zunächst eine Übersicht folgen über das Resultat der anatomischen Untersuchungen an den kurze Zeit nach der Fütterung getöteten Tieren. Wo von einzelnen Drüsen oder vom Blut weitergeimpft wurde, ist dies zunächst nur angemerkt. Denn die Resultate dieser Weiterimpfungen müssen im Zusammenhange besprochen werden.

### I. Reihe. Verfütterung der Tb in Bouillon.

1. 7. V. 1904. Junges $\pi$ I, 85 g schwer, $1^1/_2$ Tage alt, erhält 0,028 g Tb. Getötet nach $10^1/_2$ Tagen.

Quetschpräparate von Hals- und Dickdarmdrüsen: keine Tb.

Übrige Drüsen auf 5 weitere Tiere verimpft.

2. 14. V. 1904. Junges $\varrho$ I, 100 g schwer, 2 Tage alt, erhält 0,021 g Tb (in wenig Bouillon). Getötet nach 5 Tagen.

Quetschpräparate von Prozessus-, Cöcal-, Leberhilus- und Halsdrüsen: keine Tb.

Weitere Drüsen auf 4 Meerschweinchen überimpft.

3. 7. V. 1904. Junges $\sigma$ I, 1 Tag alt, erhält 0,245 g Tb. Getötet 5 Stunden nach der Fütterung.

4. 7. V. 1904. Junges $\sigma$ II, 1 Tag alt, erhält 0,025 g Tb. Getötet $5^1/_2$ Stunden nach der Fütterung.

Bei diesen beiden Tieren wollte ich mir vor allem einen Überblick über das Verhalten der frisch verfütterten Tb dem Magendarmkanal selbst gegenüber verschaffen. Makroskopisch bot die Schleimhaut keine Veränderung. Mikroskopisch fanden sich im Magen zahlreiche Tb-Häufchen, doch war ein engeres Anliegen derselben an der Schleimschicht des

Magenepithels oder ein Eindringen ins Epithel selbst oder gar in die Tiefe nirgends wahrzunehmen. (Bei diesen Präparaten war durch Einbringen der Mägen in kochendes Wasser direkt nach der Obduktion eine Gerinnung der Lymphe erzielt worden, die ein künstliches Hineinschwemmen von Tb während der Bearbeitung der Schnitte verhindern sollte — vgl. die Notiz bei Jungem ζ I).

Eine Serie durch das Cöcum von *o* I, welche die Cöcaldrüse vollständig mit einschlofs, zeigte auch wieder zahlreiche Tb im Hohlraum des Darms. An einigen Stellen lagen solche Häufchen innig der Schleimschicht der Darmepithelien an. Hie und da befanden sich die Bazillen auch im Lumen der Drüsenschläuche. Manchmal hatte es sogar direkt den Anschein, als ob ein einzelner Bazillus in das Epithel der Darmschleimhaut eingedrungen sei. Das Urteil hierüber war nur ein wenig erschwert durch die verhältnismäfsige Dicke der (Celloidin-) Schnitte.

Wo die Bazillen der Schleimhaut anlagen, war oft eine leichte Einbuchtung zu sehen, als weiche die Schleimhaut da, wo die Tb sitzen, etwas zurück, um sie vielleicht hernach völlig zu umschliefsen (ein Verhalten, das etwas an den »Empfängnishügel« des Eies[1]) erinnert).

Die Cöcaldrüse war frei von Tb. Der Processus vermiformis des Tierchens *o* II mit Drüse, auf gleiche Weise untersucht, ergab: Im Hohlraum des Prozessus zahlreiche Tb. An mehreren Stellen sind solche Bazillenhaufen zu sehen, die sich in die oberste Schleimlage der Epithelien gleichsam eingebettet haben. Ein weiteres Durchdringen einzelner Bazillen ist aber nirgends zu konstatieren.

In den Plaques, ebenso in der mitgeschnittenen Prozessusdrüse sind keine Tb nachweisbar. Auch im Dickdarm liefs sich kein völliges Durchwandern der Bazillen konstatieren, in einer dazu-

1) Beim Empfängnishügel zeigt sich freilich zunächst ein umgekehrtes Verhalten, das Ei kommt mit diesem vorgestreckten Protoplasmateil dem Spermatozoon entgegen. Das, was ich an beiden Vorgängen in Vergleich ziehen will, ist die Wechselwirkung zwischen den zwei beteiligten lebendigen Organismen. In beiden Fällen folgt dem Entgegenkommen, wie dem Zurückweichen ein schliefsliches vollkommenes Umfassen.

gehörigen Drüse fand ich ebenfalls keine Tb Auch in der Tonsille liefsen sich nirgends Tb erkennen. Von o II wurden 2 Meerschweinchen mit Blut und Mesenterialdrüse geimpft.

5. 29. III. 1904, Junges ζ I, 50 g schwer, 1 Tag alt, erhält 0,075 g Tb. Getötet nach $3^1/_2$ Stunden.

Im Magen des Tieres (Schnitte von den verschiedensten Gegenden) glaubte ich zuerst das Durchtreten zahlreicher Tb durch die Schleimhaut bemerken zu können; es erwies sich aber bald, dafs ich durch künstlich in die Schnitte hineingeschwemmte, aus dem Magenhohlraum stammende Bazillen getäuscht worden war.[1])

An mehreren (sehr wenigen) Orten jedoch sah ich auch in diesem Präparate Tb, die allem Anschein nach wirklich ins Schleimhautepithel eingedrungen waren. So lag an einer Stelle ein Bazillus direkt neben dem Kern im Protoplasma einer Epithelzelle, beim Verschieben der Mikrometerschraube genau in gleicher Höhe mit dem optischen Querschnitt des Kernes. Auch im Dickdarm konnten mehrmals einzelne ins Interstitium zwischen 2 Epithelzellen eingedrungene Tb wahrgenommen werden.

Schnitte durch die Cöcal- und Prozessusdrüsen ergaben aber noch ein völliges Freisein derselben von Tb (stets Serienschnitte).

### II. Reihe. Trockene Verfütterung der Tb.

6. 24. V. 1904. Junges q I, 60 g schwer, 1 Tag alt, erhält 0,005 g Tb. Getötet nach 9 Tagen.

Drüsenveränderungen noch nicht charakteristisch.

Blut und Drüsen an 5 Meerschweinchen weiter verimpft.

7. 24. V. 1904. Junges p II, 80 g schwer, 30 Stunden alt, erhält 0,005 g Tb. Getötet nach $6^1/_2$ Tagen.

---

1) Ich konnte nämlich deutlich beobachten, wie durch den Druck des Immersions Objektivs auf das Deckglas — bei noch nicht erstarrtem Kanadabalsam — Bazillenhäufchen und Einzelexemplare des Tb langsam aus dem Lumen in den Schnitt selbst hineinschwammen. Um solche Zufälle zu vermeiden, habe ich später die Mägen und Därme gleich nach der Sektion für kurze Zeit in kochendes Wasser geworfen (Erstarren der Lymphe), teils in Celloidin eingebettet und die Untersuchung der Präparate erst nach dem Trockenwerden des Kanadabalsams vorgenommen.

Ausstrichpräparate aus Magen- und Darminhalt: keine Tb.
Quetschpräparate von Dünndarmdrüse: keine Tb.
Blut und Drüsen an 4 Meerschweinchen weiter verimpft.

8. 17. IX. 1904. Junges f IV, 80 g schwer, $1^3/_4$ Tag alt, erhält sehr grofse Mengen Tb (mindestens 0,3 g).
Getötet nach 5 Tagen.

In Quetschpräparaten einer Leberhilus-(Pylorus-) Drüse gelingt der Nachweis eines sicheren Tb. In Präparaten aus drei kleinen Netzdrüsen wird ebenfalls ein sicherer Tb nachgewiesen.

Hier ist der Ort, einzuschalten, dafs (wie ich mich durch zahlreiche Untersuchungen an normalen Tieren überzeugt habe) sowohl diese Drüschen am Netz wie auch die kleine Drüse am Cöcum bei allen jungen Meerschweinchen vorhanden ist. Es handelt sich nicht — wie man nach den Behringschen Mitteilungen wohl annehmen mufs[1]) — um durch die Tätigkeit des Tb hervorgerufene Neubildungen. Ich habe auch von solchen Knötchen verschiedentlich Serien angelegt und hierbei gesehen, dafs sie völlig wie Lymphdrüsen gebaut sind.

9. u. 10. 20. V. 1904. Junges h I und II, je 70 g schwer, $^3/_4$ Tag alt erhalten 0,005 und 0,009 g Th. Sie starben spontan an Sepsis[2]) nach $3^1/_2$ resp. $5^1/_2$ Tagen.

---

1) »Wenige Tage später ... submiliare Verdickungen im kleinen und grofsen Netz, mit Th, sowie kleine Knötchen an einer dem Blinddarm nahe gelegenen Stelle der Mesenterialwurzel.«

2) Die Mutter dieser beiden Tierchen starb am 24. V. 1904 an Sepsis (Peritonitis mit jauchigem Exsudat. Starke Trübung des Leberparenchyms. Riesige Infektionsmilz. Nephritis. Adhäsivpleuritis. Pneumonie). Da sich bei den Obduktionen der Jungen (von denen das eine gleichzeitig mit der Mutter starb, das andere 2 Tage später) ganz gleichartige Veränderungen fanden, so untersuchte ich die drei Fälle darauf, ob etwa eine Infektion der Neugeborenen durch die Säugung nachzuweisen war.

Es gelang mir aus verschiedenen Organen der drei Tiere anaërobe Stäbchen rein zu züchten, die ich nicht näher bestimmen konnte, deren Aussehen auf den Kulturen jedoch nicht völlig identisch war. Aufserdem wuchsen aus den Organen der Jungen und Alten zur Coli-Gruppe gehörige Stäbchen. Die Untersuchung der Milchdrüsen der Alten nach verschiedenen Färbungsmethoden (auch Gram) ergab völliges Freisein der Drüse von Mikroben. Auch in den noch sehr viele Milchkügelchen enthaltenden Milch-

Quetschpräparate aus verschiedenen Organen, untersucht auf Tb: negativ.

11., 12., 13. 20. V. 1904. Junge l I, l II, l III, 65, 65 und 60 g schwer, 10 Stunden alt, erhalten 0,014—0,027 und 0,025 g Tb. Sie gingen spontan ein und zwar l II kurz nach der Fütterung an septischer Pneumonie, die beiden anderen 4 Tage später, wahrscheinlich an Lebensschwäche. Denn die Obduktionen ergaben nichts Pathologisches.

Die von den Drüsen angelegten Quetschpräparate enthielten bei allen drei Tieren keine Tb. Im Mageninhalt von l II waren noch zahlreiche Th, dagegen noch keine solchen in dem streptokokkenhaltigen Cöcum. Das Tier mufs demnach sehr schnell nach der Fütterung (abends vorgenommen) gestorben sein.

14. 17. IX. 1904. Junges f III, 80 g schwer, 1¾ Tage alt, erhält grofse Mengen Tb (mindestens 0,3 g). Getötet nach 3 Tagen.

Quetschpräparate:

a) kleines Netzknötchen enthielt wenige sichere Tb.

b) Leberhilusdrüse: zwei sichere Tb.

c) Drüschen im vom Leberhilus zum Zwerchfell hinaufführenden Bindegewebe gelegen: keine Tb.

d) Halsdrüse: keine Tb.

e) Trachealdrüse: keine Th.

f) Tonsille: vielerlei Mikroben, aber keine Tb.

g) Drüschen aus dem kleinen Netz: keine Tb.

15. 17. V. 1904. Junges f I, 100 g schwer. ½ Tag alt, erhält 0,029 g Tb. Getötet nach 3 Tagen.

Im Magen keine Tb mehr, in Processus vermiformis noch vereinzelte Exemplare.

Quetschpräparate von Omentumdrüse: keine Tb.

Blut und Drüsen aus Meerschweinchen weiter verimpft.

Die Ergebnisse dieser anatomischen Untersuchungen sind: Bei Verfütterung sehr grofser Mengen von Tb finden sich einzelne Exemplare schon nach wenigen Tagen in Drüschen des Netzes und des Leberhilus. Bei Aufnahme kleinerer Tb-Mengen in den Darm mifslingt aber in dieser Zeit der anatomische Nachweis der Tb in den Drüsen. Der Durchgang der Tb durch den Magendarmkanal geht wahrscheinlich sehr rasch

gängen waren nirgends Bakterien zu sehen. Eine Ansteckung der Jungen durch die Säugung konnte also nicht nachgewiesen werden; eher liefse sich hier an eine perkutane Infektion von der Nabelwunde aus denken, wie sie von Gefsner und neuerdings (in einem Münchener Vortrag) auch von Behring vertreten wird.

nach der Fütterung vor sich. An einzelnen Stadien des Durchgangs konnten, zumeist am Cöcum und Processus vermiformis, festgestellt werden:

1. Einbettung der Tb in die obere Schleimschicht des Epithels, vorhergehendes (?) Zurückweichen der Schleimhaut vor dem Tb.
2. Aufnahme in Epithelzellen selbst oder in das Interstitium nebeneinander liegender Zellen.

Weitere Stadien der Durchwanderung kamen nicht mehr zur Beobachtung.

Eine Reizung der Darmschleimhaut durch die Tb selbst habe ich nie gesehen. Die Art und Weise, wie Nebelthau das Verhalten der Tb im Darm gröfserer Versuchstiere studierte, entspricht gar nicht den natürlichen Verhältnissen. Durch die zur Isolierung der Dünndarmschlingen notwendige Abklemmung mittels Kautschukschläuchen wurden ganz abnorme Zirkulationsbedingungen gesetzt, und es bezeugen auch manche Notizen von Nebelthau selbst, dafs nach Ablauf gewisser Zeit arge pathologische Veränderungen, von der entzündlichen Hyperämie bis zur nekrotischen Geschwürsbildung und diphtheritischen Belägen, eingetreten sind (a. a. O. S. 584/85).

## Die „Knötchenlunge".

Was ich bis jetzt berichten konnte, sind gesicherte Resultate, der letzte Teil dieses Kapitels beschäftigt sich dagegen mit Befunden, die eine ganz zweifelsfreie Erklärung noch nicht zulassen, die aber wegen ihrer Merkwürdigkeit einer ausführlichen Erörterung wert sind.

Es sind Befunde, welche ich an denjenigen Meerschweinchen machte, die mit Blut und Drüsen vor kurzer Zeit mit Tb gefütterter Neugeborner geimpft wurden.

Das Blut wurde mit all den bei den Milzbrandversuchen Nr. 11 und 12 geschilderten Kautelen dem Herzen des narkotisierten Tieres entnommen, darnach wurde das Tier getötet. Hierauf schritt ich zur Ablösung der einzelnen Drüsen. Diese wurden

dann gesunden Meerschweinchen unter die Bauchhaut eingenäht, das Blut wurde aus der Spritze, mit der es dem Herzen entnommen war, subkutan unter die Bauchhaut injiziert.

Die ersten Obduktionen der so behandelten Tiere, die ich vornahm, ergaben glatte Resorption an der Impfstelle und keine Organveränderungen. Bald aber zeigten sich — wenn eine längere Zeit nach der Impfung verstrichen war — eigenartige Knötchen in den Lungen, die um so gröfser, resp. zahlreicher wurden, je mehr Zeit zwischen Impfung uud Tötung gelegen war. Eine nochmalige Durchmusterung der früher obduzierten Tiere, bei denen das ungeübte Auge damals noch alles normal befunden hätte, zeigte dann bei dem noch vorhandenen Material (z. B. bei Meerschweinchen M und N) ebenfalls eine solche Knötchenbildung im früheren Stadium. Ehe ich eine genaue Beschreibung hiervon gebe, lasse ich eine Übersicht über die so behandelten Tiere folgen. Ihre Aufzählung richtet sich nach dem zwischen Impfung und Tötung vergangenen Zeitraum (Rubrik 4 der Tabelle).

(Folgt Tabelle auf S. 45—49.)

Wie aus den Obduktions-Protokollen hervorgeht, zeigten sich in den anfänglichen Stadien ganz kleine an der Grenze der Sichtbarkeit stehende runde Knötchen, die graudurchsichtig waren. Mit dem weiteren Fortschreiten des Prozesses nahmen sie an Umfang zu, häufig wurden sie hirsekorngrofs, wuchsen gelegentlich auch noch darüber hinaus. Bei solcher Entwicklung zeigten sie ein graues Aussehen, überragten auf dem Durchschnitt die Schnittfläche etwas und hatten einige Ähnlichkeit mit den grauen Tuberkeln (vgl. Fig. 1), doch zeichneten sie sich durch eine gröfsere Transparenz vor diesen aus.

Dafs diese Knötchen[1]) tuberkulöser Natur sein könnten, war von vorn herein anzuzweifeln, denn es fehlte regelmäfsig eine lokale Erkraukung der Impfstelle, die im Experiment nie vermifst wird.

1) Der Kürze halber spreche ich weiterhin nur von »Knötchen« und »Knötchenlunge«.

| Bezeichnung des Versuchstieres | Geimpft mit | Zeit, die zwisch. Fütterung und Tötung d. Tiere verstrichen war, dem Drüse resp. Blut entnommen wurde | Zeit, die zwisch. Impfung des Versuchstieres und seiner Tötung verfloß | Obduktionsbefund des Versuchstieres | | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | 1 Alle Organe außer Lunge | 2 Lunge | 3 Mikroskopischer Befund | |
| 1 | Herzblut $o$ II | $5^1/_2$ Stunden | $1^1/_4$ Monate | Tod spontan an Sepsis | Normal | — | |
| ♂ | Trachealdr. $\pi$ I | $10^1/_2$ Tage | 2 Monate | Normal | Normal | — | Lungen wurden nicht konserviert |
| ♀ | 3 Halsdr. $\pi$ I | $10^1/_2$ Tage | 2 Monate | Normal | Normal | — | |
| ♂ | 3 Prozessusdrüsen $\pi$ I | $10^1/_2$ Tage | 2 Monate | Normal | Normal | Charakt. Knötchen in den Lungen m. viel Kariokynesen und zahlreichen großen aufgeblasenen Kernen | |
| ♂ | Leberhilusdrüse $\pi$ I | $10^1/_2$ Tage | 2 Monate | Normal | Normal | | |
| 2 | Mesenterialdrüse $o$ II | $5^1/_2$ Stunden | $2^1/_4$ Monate | Normal | Normal | (Lunge nicht konserviert) | |
| ♀ | Trachealdr. $\varrho$ I | 5 Tage | $2^1/_2$ Monate | An der Impfstelle derb sich anfühlend. Reste des Eingenähten. Drüsen etwas vergrößert, ebenso Milz | Normal | An der Impfstelle nur Knorpelreste (wohl von der Trachea). Keine Tuberkulose in den Organen (Milz, Drüsen). Lunge nicht konserviert | |
| H III | 4 Halsdrüsen $q$ I | 9 Tage | $2^1/_2$ Monate | Tod spontan während ich verreist war. Am konservierten Präparate Todesursache nicht mehr zu konstatier. | — | — | |

| Bezeichnung des Versuchstieres | Geimpft mit | Zeit, die zwisch. Fütterung und Tötung d. Tiere verstrichen war, dem Drüse resp. Blut entnommen wurde | Zeit, die zwisch. Impfung des Versuchstieres und seiner Tötung verfloß | Obduktionsbefund des Versuchstieres | | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | 1 Alle Organe ausser Lunge | 2 Lunge | 3 Mikroskopischer Befund | |
| ♀ | Halsdrüsen ♀ I | 5 Tage | $2^3/_4$ Monate | Alle Körperdrüsen geschwellt und getrübt. Milz etwas vergrößert | Allerkleinste, grandurchscheinende Herdchen | Keine Tuberkulose der Drüsen. Dagegen sieht man schon makroskopisch an den Färbeschnitten scharf voneinander abgegrenzte helle und dunkle Partien in den Drüsen. Die umfänglichen hellen Partien sind erzeugt durch ein starkes Ödem, welches d. Stroma u. die Zellen stark auseinandergedrängt hat. Viel pigmentkörnchenhaltige Zellen. Bakterienfärbungen (auch Gram) negativ. Knötchen in der Lunge von typischem Bau | |
| 3 | Herzblut p II | $6^1/_2$ Tage | $3^1/_2$ Monate | Normal, nur Milz leicht vergrößert | Im l. Unterlappen ein grandurchscheinendes hirsekorngroßes Knötchen. Beim Durchschneiden dieses Lappens noch ein kleinerer submiliarer, über die Schnittfläche vorspringend. grauer Herd | Das Lungenknötchen besteht aus lymphoiden Elementen, zeigt reichlich Kernteilungsfiguren und große aufgeblasene Zellen. Keine Tb. Milz mit großen Follikeln, ohne sonstige Veränderung | |
| 4 | 3 Prozessus-drüsen p II | $6^1/_2$ Tage | $3^1/_2$ Monate | Leber enth. einige parasitäre Herdchen. Milz etwas vergrößert, mit deutl. sichtbaren Follikeln | In verschied. Teilen ganz kleine, graue, submiliare, über die Schnittfläche prominierende Herdchen | Lunge: Vollkommen charakteristische Knötchen, aus Lymphelementen bestehend, m. großen aufgeblasenen Kernen und Zellteilungen. Keine Tb.<br>Leber: Keine Tuberkulose.<br>Milz: Lediglich Follikelschwellg | |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 | Leberhilusdrüse p II | $6^1/_2$ Tage | $3^1/_2$ Monate | Leber zeigt an ihrer Oberfl. kleine gelbl. Einlagerungen. Milz viell. etwas vergrößert, mit grofsen Follikeln | An einigen Stellen der Oberfl. d. linken Unterlappens kleine rundliche, graudurchscheinende Knötchen, auf dem Durchschn. etwas prominierend | Lunge<br>Leber<br>Milz } Wie beim vorhergehenden Tier |
| 6 | 2 Halsdrüsen p II | $6^1/_2$ Tage | $4^3/_4$ Monate | Leber zeigt eine Anzahl miliarer graugelber Knötchen. Milz mit dentl. Follikeln | Eine grofse Anzahl submiliarer durchscheinender Knötchen. Einige Knötch. gröfser, eines an d. Oberfläche hirsekorngrofs, dentl. über die Schnittfläche vorspringend | Leber ohne Tuberkulose Lunge: Typischer Knötchenbefund |
| H II | Herzblut q I | 9 Tage | $4^3/_4$ Monate | Leber mit parasitärer Einlagerung | An verschied. Stellen etwas unter miliare graue durchscheinende Knötchen, an d. Oberfl. wie auf d. Schnittfläche | Lunge: Typischer Knötchenbefund |
| ♀ | Omentum- u. Leberhilusdrüsen ϱ I | 5 Tage | $5^1/_4$ Monate | Leber enth. einige bis linsengrofse gelbliche Knötchen, die keinen tub. Eindruck machen. An ihrer Unterfl. eine mäfsige Anzahl kleiner miliarer graugelber Knötchen | Eine gröfsere Anzahl graudurchscheinender Knötchen, über die Schnittfläche etwas hervorspringend. Die gröfsten derselben erst halb hirsekorngrofs | Die kleinen Leberherdchen bestehen aus sehr protoplasmareichen Zellen mit grofsen, zumeist länglichen Kernen, in denen man oft die Kernkörperchen deutlich erkennen kann. An einigen Stellen Kernteilungsbilder. Die Herdchen sind nicht rund, sondern senden nach den Seiten hin ins normale Gewebe Sprofsen aus. Die Kerne färben sich im ganzen etwas stärker als die des normalen Gewebes, die Zellen selbst sind trotz ihres Protoplasmareichtums bedeutend kleiner als die Leberzellen. Nirgends Nekrose od. Verkäsung, keine Riesenzellen, keine bindegewebige Umgebg., keine Leukozyten Infiltration. Keine Tb |

| Bezeichnung des Versuchstieres | Geimpft mit | Zeit, die zwisch. Fütterung und Tötung d. Tiere verstrichen war, dem Drüse resp. Blut entnommen wurde | Zeit, die zwisch Impfung des Versuchstieres und seiner Tötung verfloß | Obduktionsbefund des Versuchstieres | | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | 1<br>Alle Organe aufser Lunge | 2<br>Lunge | 3<br>Mikroskopischer Befund | |
| II | 3 Prozessus-drüsen f I | 3 Tage | 5½ Monate | Leber enth. einige parasitäre Herdchen | Lunge enthält, am stärksten im linken Unterlappen, eine gröfsere Anzahl der kleinen grauen Knötchen, v denen einige bis Miliumgröfse erreichen | — | Die verdächt. Knötch werden ausgeschnitt. u. d. Meerschweinch. 69 intraperit. eingeimpft |
| ℜ | Prozessusdr. ♀ I | 5 Tage | 6 Monate | Im Netz zwei etwas grofse Drüschen | Zahlreiche allerkleinste Knötchen; viele der gröfseren grandurchscheinenden Knötchen bis halbhirsekorngrofs | Netzdrüschen normal. Lunge: Typischer Knötchenbefund | |
| ☉ | Herzblut f I | 3 Tage | 6½ Monate | Sämtliche Körperdrüsen vergröfsert und stark getrübt. Milz etwas grofs, mit deutl. Follikeln | R. Lunge enth. eine geringe Anzahl grauer miliarer Knötchen, sehr zahlreiche allerkleinste grandurchscheinende Knötchen | Der Drüsenprozefs ist sicher kein tuberkulöser. Er ähnelt am ersten einer Lymphosarkombildung. Lunge: Typischer Knötchenbefund | |
| ☿ | Leberhilus- u. Omentumdrüsen f I | 3 Tage | 8⅛ Monate | Frische Pfortader thrombose (traumatisch entstanden?) mit Infarctbildung in d. Leber | In allen Teilen eine Anzahl der grauen miliaren Knötchen. Einige derselben von einem roten (hämorrhag.?) Hof umgeben | Zellen des Leberinfarktes nicht mehr färbbar. Der Infarkt enth. keine Bakterien | Tuberkulinprobe! |

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| γ I | 2 Prozessus-drüsen q I | 9 Tage | 8½ Monate | Leber enth. einen erbsengroſsen parasitären Herd. Einige Plaques schiefrig induriert. Zarte Verwachsungen der R. Pleura | Ganze Lunge, besonders der r. Unterlappen besetzt mit zahlreichen miliaren grauen Knötchen, von denen eine gröſsere Anzahl einen roten (hämorrhag.?) Hof hat. Auſserordentlich zahlreiche allerkleinste Herdchen | Lunge: Typischer Knötchenbefund | Tuberkulinprobe! (Diese Lunge ist abgebildet) |
| σ I | 2 Leberhilus-drüsen q I | 9 Tage | 9 Monate | Infiltrat an der letzten Tuberkulin-Injektionsstelle. Sonst normal. | Zahlreiche allerkleinste Herdchen. Im r. Mittellappen ein grauer, über die Oberfläche vorspringender, fast erbsengroſser Herd. Konsistenz zieml. derb | Der groſse Herd wurde eingebettet, ging aber leider verloren, so daſs ich über ihn keine Angaben machen kann. Sonst enthält die Lunge nur recht kleine Lymphknötchen, die keine gröſsere Tätigkeit zeigen | Tuberkulinprobe! |
| σ II | 2 Cöcaldr. q I | 9 Tage | 9 Monate | Nekrose der Bauchhaut an letzter Tuberkulin-Injektionsstelle. Sonst normal. | An verschied. Stellen, am stärksten im recht. Unterlappen, groſse miliare, graue Herdchen. Eine sehr groſse Anzahl kleinster, graudurchscheinender Herdchen | Lunge: Typischer Knötchenbefund | Tuberkulinprobe! |
| 𝔅 | 2 Halsdrüsen f I | 3 Tage | 9½ Monate | Nekrose an der letzten Tuberkulin-Injektionsstelle. In der Leber ein unverdächtiger parasitärer Herd | Besonders in den Unterlappen kleine submiliare graue Knötchen in sehr groſser Anzahl | Lunge: Typischer Knötchenbefund | Tuberkulinprobe! Weiterverimpf. d. größt. Knötch. auf d. Kornea d. Meerschw. (107) u. Kan. (o) |

Dennoch genügte natürlich dieser Umstand nicht zur Ablehnung einer durch die Impfung entstandenen tuberkulösen Erkrankung. Ich nahm deshalb zunächst histologische Untersuchungen der eigenartigen Gebilde vor. Für dieselben schnitt ich diejenigen Lungenstückchen, welche die gröfsten Knötchen enthielten, aus und verarbeitete sie zu Schnittserien. Auf Tb färbte ich nach Ziehl-Neelsen, 24 Stunden lang im kalten Karbolfuchsin, doch wandte ich — um völlig sicher zu gehen — allerlei Modifikationen an. Ich kann als Resultat der aufserordentlich zahlreichen Untersuchungen (fast von jedem Tier verarbeitete ich ein oder mehrere Lungenstückchen in Serien) summarisch berichten, dafs sich niemals Tuberkelbazillen in den Knötchen gefunden haben. Der histologische Aufbau, von dem ich später spreche, führte ebenfalls zur Verwerfung einer tuberkulösen Erkrankung.

Ich machte noch weiterhin den Versuch der Übertragung knötchenhaltiger Teile auf neue Tiere. So impfte ich ein Meerschweinchen (69) mit vielen Knötchen der Lunge des Meerschweinchens Ü intraperitoneal. Nach 9 Monaten zeigte das neugeimpfte Tier nirgends eine Spur von Tuberkulose, wohl aber zu meiner gröfsten Überraschung zahlreiche kleine Knötchen von genau der gleichen Art wie die früher verimpften in seiner Lunge.

Lungenknötchen des Meerschweinchens 𝔅 brachte ich in die vordere Augenkammer eines neuen Meerschweinchens (107) und eines Kaninchens hinein. Eine örtliche Tuberkulose ist auch darnach nicht eingetreten. Die Tötung und Obduktion der Tiere will ich erst in mehreren Monaten vornehmen, um mich dann überzeugen zu können, ob auch bei ihnen Knötchen in den Lungen entstanden sind. Aufserdem machte ich bei den am längsten am Leben gelassenen Tieren, die im ganzen bei der Obduktion die zahlreichsten und gröfsten Knötchen zeigten, Tuberkulin-Injektionen.

Sowohl bei Meerschweinchen 𝔗 wie bei 𝔅 trat nach Einspritzung von 0,3 ccm Neu-Tuberkulin nicht die geringste Reaktion ein,

mit Ausnahme einer mäfsigen Gewichtsabnahme, die sich in gleichem Mafse bei den Kontrolltieren zeigte. (30. I. 05.)

Ganz ebenso wenig reagierten die Tiere $\sigma$ I, $\sigma$ II und $\gamma$ I auf die Injektion von 0,5 ccm Alt-Tuberkulin (am 14. II. 05) und späterhin (am 28. II. 05) $\sigma$ I, $\sigma$ II und ♀ auf die riesige Menge von 2,5 resp. 3 ccm Alt-Tuberkulin. Nur bei $\gamma$ I und ♀ wiesen bei der Obduktion (nach Tötung mit Chloroform) einige der grauen Knötchen einen roten Hof auf, entstanden durch Kapillarhyperämie. Nach all diesen Befunden darf wohl mit Sicherheit ausgesprochen werden, dafs die Knötchen keine tuberkulösen Bildungen sind.

Nun ist uns zur Genüge bekanut, dafs auch tote Tuberkelbazillen Knötchenbilduugen erzeugen können (Römer), nach Marcantonio soll das Serum und das defibriuierte Blut mit experimenteller akuter Miliartuberkulose behafteter Tiere auch nach Filtration durch das Chamberlandsche Filter bei intraperitonealer oder subkutaner Impfung in Lunge, Leber und Milz tuberkuliforme Herde (ohne Bazillen und Riesenzellen) hervorbringen. Bei intraperitoneal geimpften Meerschweinchen soll es typische Lebertuberkel hervorrufen können, ebenso erzeugen die in Äther resp. Chloroform gelösten Bestandteile der Tb uach dem gleichen Autor resp. nach Auclair gewisse Veränderungen, wie wir sie bei Tuberkulose zu sehen gewohnt sind.

Allen diesen Veränderungen ist aber gemeinsam, dafs sie denen der echten experimentell erzeugten oder uuter den natürlichen Verhältnissen entstandenen Tuberkulose äufserst ähnlich sind. Bei unseren Knötchen dagegen handelt es sich um ganz differeute Bildungen. Denu sie stellen histologisch nichts anderes dar als aufserordentlich grofse Lymphknötchen, die eine ganz auffallende Tätigkeit zeigen.

Wir finden nämlich (vgl. Fig. 7) bei gewöhnlich recht weiten Kapillareu der Umgebung Anhäufung von Zellen, deren Kerne zumeist grofs, hell, wie aufgeblasen, sehr chromatinarm sind; bei manchen Kernen sammelt sich das Chromatin am Rande an; wir sehen ferner als etwas besonders Charakteristisches in grofser Anzahl Kernteilungsfiguren in allen Stadien. Auch auf

eine öftere Anwesenheit zahlreicher eosinophiler Zellen in solchen Knötchen und den nahegelegenen Blutgefäfsen bin ich aufmerksam geworden — ob es sich aber um eine konstante Begleiterscheinung handelt, kann ich heute noch nicht sagen. Das Knötchen vermag bei dieser reichen Tätigkeit, wie erwähnt, bis über Miliumgröfse anzuschwellen und in den exquisiten Fällen finden sich die Lungen (am stärksten zumeist die Unterlappen) wie übersät von den kleinen Knötchen (Fig. 3 und 5 im Gegensatz zu Fig. 2 und 4). —

Als ich sicher zu sein glaubte, dafs die Knötchen Ansammlungen von Lymphelementen seien, stellte ich mir die Frage, ob und in welcher Weise solche in der normalen Lunge verteilt seien.

Ich habe deshalb bei zahlreichen Meerschweinchen Serienuntersuchungen von Lungenstücken vorgenommen, bei ganz normalen Tieren sowohl, wie bei solchen, die einer Infektion erlegen waren oder eine solche überstanden hatten[1]). Ich fand in allen untersuchten Lungen kleinste Ansammlungen von Lymphelementen und zwar ebensowohl bei jungen wie bei heranwachsenden und alten Tieren. Bei den neugebornen sind sie ganz klein, scheinbar auch spärlicher als bei älteren Tieren, mit dem fortschreitenden Wachstum tritt eine gewisse Vergröfserung und Vermehrung ein. Dies adenoide Gewebe hat seine Prädilektionsorte direkt unter der Pleura, im peribronchialen Gewebe und in der Scheide kleiner Blutgefäfse. Sein enger Zusammenhang mit dem Gefäfssystem geht auch daraus hervor, dafs man die Gebilde sehr häufig von kleinen und kleinsten Arterien durchbohrt findet.

Der mikroskopische Bau derselben ist gleich dem eines jeden Lymphknötchens. Abbildung 6 zeigt sehr gut die Zusammensetzung eines sehr grofsen Konglomerates vom Lymphendothelien aus einer normalen Meerschweinchenlunge. Man sieht dort stark

1) Ich nahm zur Untersuchung stets solche Stücke, in denen dem makroskopischen Anblick zufolge sich die gröfsten Knötchen befanden. Durch Übung brachte ich es so weit, noch allerkleinste »stecknadelspitzgrofse« Knötchen zu erkennen. Auf Details darf ich hier nicht eingehen, hoffe aber später in ausführlicher Weise dies Thema umfassen zu können.

Digitized by Google

chromatinhaltige, gleichmäfsig aussehende Zellen, die kaum etwas von einer gröfseren Tätigkeit erkennen lassen.

In den Lehrbüchern der Zoologie und der vergleichenden Anatomie konnte ich wenig Bemerkenswertes über diese Lymphorgane der Lunge finden.

Dennoch sind sie schon seit ziemlich langer Zeit beschrieben worden. Über die mit der Bronchialwand in inniger Beziehung stehenden Lymphorgane haben Burdon-Sanderson, C. A. Ruge, Klein, Friedländer, Schottelius und Frankenhäuser berichtet. Arnold und Lüders machten vor allem auf das subpleural liegende lymphatische Gewebe der Lunge aufmerksam, und bei Ribbert, neuerdings bei Sawada, bilden die Knötchen einen wesentlichen Punkt bei der Entstehung der hämatogenen Miliartuberkulose der Lunge.

Über die Deutung derselben ist man nicht immer einig gewesen, sie sind ebenso als normale Bestandteile angesehen worden, wie »als pathologische Produkte oder aber als mehr zufällige und unwesentliche Gebilde.«

Heute können wir es als gesichert betrachten — und für das Meerschweinchen bieten auch meine Untersuchungen eine Stütze — dafs man die Anwesenheit der lymphatischen Elemente in der Lunge als etwas ganz Normales ansprechen darf. Aber der besonders durch Arnolds Arbeiten errungene Standpunkt, dafs nicht nur bei den einzelnen Arten, sondern auch bei verschiedenen Individuen derselben Art Differenzen in der Verteilung und im Bau dieser lymphatischen Apparate sich finden, wird wieder zu verlassen sein. Wenn auch Verschiedenheiten in engen Grenzen zuzugeben sind, so bin ich nach meinen Untersuchungen heute der Überzeugung, dafs im allgemeinen das, was für individuelle Abweichung angesehen wurde, ein pathologisches Produkt ist, oder besser ausgedrückt, eine Reaktion des Körpers gegen eingedrungene Noxen darstellt. Während nämlich bei den normalen Tieren fast ausnahmslos verhältnismäfsig kleine, in grofser Ruhe befindliche Lymphorgane sich fanden (wie oben beschrieben), war bei den in der Tabelle aufgeführten Meerschweinchen beinahe stets ein ganz anderes Verhalten zu bemerken.

Hier darf ich zur besseren Begründung meiner folgenden Anschauungen einige Arbeiten von Bartel kurz einschalten. Der Autor versuchte der Fütterungstuberkulose beim Kaninchen durch Überimpfung von Drüsen, Tonsillen usw. auf Meerschweinchen zu folgen und konnte dabei wiederholt in Organen Tb nachweisen, wo makroskopisch keinerlei auf Tuberkulose deutende Veränderung zu konstatieren war, in einem Falle fand er sogar Latenz der Tuberkuloseerreger 104 Tage lang.

Mir ist im völligen Gegensatze hierzu — wie die Tabelle zeigt — der Nachweis der Tb auf dem gleichen Wege nicht geglückt. Da jedoch die im Vorhergehenden beschriebenen Versuche eindeutig erwiesen hatten, dafs sich ganz regelmäfsig durch die von mir verabreichten Tb-Quantitäten eine Fütterungstuberkulose erreichen läfst, so mufs ganz sicher zum mindesten ein Teil der durch Weiterverimpfung geprüften Organe Tb-haltig gewesen sein. (Man erinnere sich nur, dafs bis zu $10^1/_2$ Tagen zwischen Fütterung und Tötung vergangen waren!). Einerseits wird die Differenz zwischen Bartels und meinen bezüglichen Versuchen sich erklären lassen aus einem verschiedenen Virulenzgrade der verwandten Bazillen, anderseits macht das Fehlen jeglicher tuberkulöser Erscheinungen bei meinen Impftieren und der gerade bei ihnen immer wiederkehrende »Knötchen«-Befund es aufserordentlich wahrscheinlich, dafs die Knötchen mit den bei der Impfung in den neuen Tierkörper mit eingebrachten Tb zusammenhängen.

Ich hatte, angeregt durch Nicolas und Descos (oben zitiert) und durch meine anatomischen Untersuchungen die Vorstellung bekommen, dafs ganz schnell nach der Fütterung einzelne Tb in Drüsen einwandern. Nun wird gewifs nicht jede Drüse deshalb gleich von Tuberkulose befallen, besonders die Bartelschen Untersuchungen kommen ja den Behringschen Anschauungen von einer gewissen Latenz der Tb im tierischen Organismus entgegen. Meine Fütterungsresultate (des I. Teils) hatten gezeigt, dafs sehr häufig nur eine Drüsengruppe tuberkulös erkrankt war, in einer Anzahl von Fällen waren aber zweifellos verschiedene Gruppen gleichzeitig von der Tuberkulose ergriffen.

Es ging daraus für mich hervor, dafs wahrscheinlich die Infektionsmöglichkeit für viele Drüsengruppen in allen Fällen gegeben ist, dafs aber oft genug die Drüsen, in welche eine verhältnismäfsig geringe Anzahl von Tb eingedrungen ist, der Infektion widerstehen können. Nach meinen Resultaten sind dies sicher öfters die Halsdrüsen als die Prozessusdrüsen.

Wird nun eine solche Drüse dem Organismus frühzeitig entnommen, so mufs sie gewifs noch die vielleicht schon unschädlich gemachten oder doch bereits schwer geschädigten Tb enthalten. Wird die Drüse weiter überimpft, so kann eine Tuberkulose natürlich nicht mehr entstehen, die wenigen, zum mindesten schwer geschädigten Tb können auch nicht zu tuberkelähnlichen Bildungen mehr führen. Ich weise hier auf die schon oben zitierte, wichtige Arbeit von Perez hin. Dieser nimmt eine allmählich bis zum völligen Virulenzverlust sich steigernde Abschwächung der in die Lymphdrüsen eingedrungenen Bakterien an. Nach einer zwei- bis dreimaligen Passage der Tb durch die Drüsen konnte er nur noch eine milde Infektion bei Tieren erzeugen. Bei den ganz geringen Mengen unseres schwach virulenten (Menschen-) Tb hat gewifs die zweite Passage schon die völlige Abtötung derselben herbeigeführt. Nun wird aber der zweite Tier-Organismus die toten Tb nicht ohne weiteres liegen lassen oder einfach resorbieren. Wenn ihnen auch die vitale Kraft genommen ist, so enthalten sie noch immer dem tierischen Körper widrige Stoffe[1]). Gegen diese wird er sich durch Bildung von Abwehrprodukten schützen wollen, kurz es werden mit aller Wahrscheinlichkeit Immunisierungsvorgänge eingeleitet werden.

1) Bartele, der durch nicht sicher zu deutende Befunde an seinen Impftieren zu Untersuchungen über die Wirkung schwach virulenter Tb veranlafst wurde, fand zusammen mit Stein, dafs schwach virulente abgetötete Tb in den von ihnen veränderten Organen in natürlicher Verteilung eingeschlossen, nicht imstande seien, am Impftiere Veränderungen spezifischer Natur oder auch nur Marasmus zu erzeugen. Ich habe die Protokolle von B. und S. genau studiert, konnte aber in ihnen Veränderungen nicht finden, die in ihrem histologischen Bau meinen Lungenknötchen entsprochen hätten. Leider haben die Autoren keine Untersuchungen der Lungen selbst unternommen. Vielleicht besitzen sie noch das Obduktionsmaterial und vermögen bei genauer Durchsicht die Knötchen wirklich zu entdecken.

Für einen Ausdruck solcher Vorgänge nun halte ich meine Knötchen[1]). Da der Organismus sehr häufig in die Lage kommt, sich gegen eingedrungene schädliche Stoffe (Bakterien oder ihre Produkte) wehren zu müssen, so erschien es möglich, dafs nicht nur die Tuberkelbazillen, sondern auch andere belebte oder unbelebte Gifte das normale adenoide Gewebe der Lunge in der beschriebenen Weise beeinflussen können.

Bei meinen Nachforschungen an anderen Lungen als denen meiner Impftiere habe ich aber nur ganz selten ähnliche Veränderungen gefunden, so bei einem Tier, das eine schwere Diphtherietoxin-Infektion überstanden hatte, ein andermal bei einem Fall spontaner septischer Erkrankung, einmal auch bei einem alten schwangeren Muttertier.

Diese wenigen Beobachtungen vermöchten vielleicht gegen eine Spezifizität des eigenartigen Prozessus in der Lunge zu sprechen, indessen könnte ja auch der Körper dieser Tiere in irgend einer Weise mit geringen Dosen abgeschwächter Tb zu tun gehabt haben[2]). Natürlich sind mit dem Mitgeteilten meine Arbeiten über diesen Punkt nicht abgeschlossen. Ich habe seit längerer Zeit schon Tiere in Beobachtung, die mit Drüsen und Blut unbehandelter neugeborener Junger geimpft sind. In den ersten drei Monaten konnte ich bei ihnen eine stärkere Knötchen-Entwicklung nicht feststellen. Weitere Stadien sind noch nicht untersucht.

---

1) Ich erinnere daran, dafs Manfredi und Viola auf den Einflufs der Lymphdrüsen bei der Erzeugung der Immunität gegen ansteckende Krankheiten aufmerksam gemacht haben.

2) Ich kann hier eine Beobachtung anführen, wo ich bei einem nur mit Drüsen eines unbehandelten neugeborenen Jungen geimpften Meerschweinchen (71) nach $2^2/_3$ Monaten eine typische Knötchenlunge fand. Die Obduktion ergab »eine einzige kleinlinsengrofse Halsdrüse, sehr hart. Beim Durchschneiden zeigte sich an einer Stelle puruleute Erweichung, sowie ein kleiner Verkalkungsherd«. Die histologische Untersuchung bestätigte Tuberkulose dieser Drüse (mit aufserordentlich zahlreichen Riesenzellen und wenigen Tb), offenbar handelte es sich in diesem Falle um eine Stallinfektion. Es wäre nicht unmöglich, dafs bei den oben genannten drei Beobachtungen Stallinfektionen mit so abgeschwächten Th stattgefunden hätten, dafs eine pathologisch-anatomisch nachzuweisende Tuberkulose nicht mehr entstehen konnte.

Digitized by Google

Ferner habe ich mit einem sehr stark virulenten, von Exzellenz v. Behring mir gütigst zur Verfügung gestellten Rindertuberkelbazillus Fütterungen vorgenommen und Drüsen wie Blut der betreffenden Tiere frühzeitig weiter verimpft. Im Blut selbst konnte ich kurz nach der Fütterung mittels der Joussetschen Methode Tb nicht nachweisen[1]). Das Ergebnis an den Impftieren mufs noch abgewartet werden.

Auch auf andere Bakterienarten und -Gifte will ich weiterhin meine Untersuchungen noch ausdehnen.

Für die vorliegende Arbeit möchte ich — da vorläufig noch zu wenig ganz Sicheres gefunden ist — keine bindenden Schlüsse ziehen, immerhin machen die Knötchen mir (wie aus meinen vorausgehenden Deduktionen ja hervorgehen mufs) wahrscheinlich, dafs der Tb durch die Fütterung rasch in die Organe der betr. Tiere gelangen kann.

Noch eine Frage ist der Erwähnung wert, wie es wohl kommen mag, dafs gerade in den Lymphorganen der Lunge solche Vorgänge auftreten. Hierzu mufs ich bemerken, dafs die Obduktion der Knötchentiere manchmal Vergröfserung der Milz und besonders recht grofse Follikel in denselben ergeben hat, die von weiten Kapillaren durchzogen waren — eine Erscheinung, welche an die für die Lungen beschriebene erinnert, und dafs ich mehrmals in den Lebern eigenartige Bildungen sah, die vielleicht auch hiermit zusammenhängen. Möglicherweise aber ist es die reiche Versorgung mit Sauerstoff (sowohl direkt aus der Luft, wie durch die Äste der Arteria pulmonalis[2]), die gerade die Lunge am befähigtsten macht, den Körper in seinen Abwehrbestrebungen zu unterstützen. Ob die gleichen Vorgänge auch bei anderen Tierarten, und insbesondere auch beim Menschen, sich finden, vermag ich nach meinen Beobachtungen natürlich nicht zu sagen, doch hat eine solche Meinung alle Wahrschein-

1) Diese von ihrem Entdecker sehr gepriesene Methode des Nachweises der Tb nach Verdauung der sie einschliefsenden Gerinnsel, scheint nach neueren Berichten, z. B. von Beitzke, doch nicht absolut zuverlässig zu sein

2) Nach Prof. Zumsteins Versuchen (zitiert bei Sawada) werden fast alle Lymphknötchen der Lunge von Zweigen der Lungenarterie versorgt.

lichkeit für sich. Speziell beim Menschen wird aber ähnliches wegen des starken Pigmentgehaltes der Lungen (und auch ihres adenoiden Anteiles) nur zu leicht der Aufmerksamkeit entgehen können.

Dafs so viele Monate nach der Infektion die Knötchen noch eine so starke Tätigkeit zeigen, braucht dann nicht wunder zu nehmen, wenn wir die Knötchen wirklich für den Ausdruck im Körper vor sich gehender immunisatorischer Vorgänge halten.

### Versuche mit hämolytischem Serum.

Die ersten Fütterungsversuche mit genuinem Eiweifs wurden mit einem hämolytischen Immun-Serum vorgenommen. Wir wissen zwar heute nichts über die chemische Konstitution der spezifischen Körper in einem solchen Serum, dürfen aber wohl annehmen, dafs sie in dieselbe Kategorie von Substanzen gehören wie die übrigen Antikörper. (Man vergleiche hierzu die Darlegungen Zanggers »Über die Funktionen des Kolloidzustandes hei den Immunkörperreaktionen«.)

Es war daher naheliegend, ein hämolytisches Immun-Serum zu verfüttern, da schon geringe Quantitäten desselhen im Blute des lebenden Tieres bedeutende und leicht nachweisbare Veränderungen hervorzubringen vermögen.

Wenn wirklich alle genuinen Eiweifsstoffe »fast quantitativ« durch den Magendarmkanal der Neugebornen ins Blut übergehen, so mufste ein mit genügenden Mengen eines spezifischen hämolytischen Serums gefüttertes Meerschweinchen unter denselben Krankheitserscheinungen sterhen, als ob ihm das Serum direkt in die Bluthahn eingespritzt worden wäre, oder zum mindesten doch an schwerer Hämoglobinurie erkranken.

Ehe ich meine Versuche schildere, möchte ich noch einer Mitteilung Métalnikoffs Erwähnung tun, die ührigens seither in der Literatur keine Stütze gefunden hat. Es ist nämlich nach seinen Angaben gelungen, auch durch Blutfütterung spezifische Hämolysine zu erzeugen. Wenn dies allgemeine Geltung hätte, wäre also ein Übertritt unveränderten Blutes sogar durch den Magendarmkanal erwachsener Tiere in deren Kreislauf erwiesen.

Digitized by Google

Ich stellte mir ein hämolytisches Serum dadurch her, dafs ich mehreren Kaninchen wöchentlich je zweimal die wiederholt aufs sorgfältigste ausgewaschenen Blutkörpercheu eines Meerschweinchens (so viel aus einer Karotis zu erhalten waren) in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, intraperitoneal injizierte. Die am 9. und 10. XII. 1903 vorgenommene Prüfung des Serums eines seit dem 21. XI. 1903 behandelten Kaninchens ($\gamma$) ergab:

| | Menge des spez. Serums. | Resultat nach 2h |
|---|---|---|
| 0,1 ccm eines ausgewachsenen Meerschwein-Blutkörperchenbreies bei einem Gesamtvolum von 2,0 ccm zusammengebracht mit: | 1. 0,5 ccm | komplette Lösung |
| | 2. 0,25 » | |
| | 3. 0,125 » | |
| | 4. 0,06 » | |
| | 5. 0,03 » | |
| | 6. 0,015 » | mäfsige Lösung |
| | 7. 0,01 » | |
| | 8. 0,005 » | geringe Lösung |
| | 9. 0,0025 » | nichts |
| | 10. 0,001 » | |
| | Kontrolle | — |

Gleichzeitig zeigte das Serum starke blutkörperchenagglutinierende Wirkung.

Das zur selben Zeit untersuchte Serum eines gleich lang behandelten Kaninchens $\beta$ hatte eine nur ganz wenig schwächere Wirkung.

Die folgenden zwei Versuche wurden mit einem Mischserum (2 Teile Serum Kan. $\beta$ + 1 Teil Serum Kan. $\gamma$) vorgenommen.

1. Ein 80 g schweres neugeborenes Meerschweinchen (J II, 2 Stunden alt) wurde am 14. XII. 1903 mit 1 ccm des Mischserums am Bauch subkutan injiziert. Am übernächsten Tag wurde stark hämoglobinhaltiger Urin sezerniert und in der Nacht starb das Tier. (Obduktion unmöglich, weil Eventeration durch die andern Käfiginsassen vorgenommen war.)

2. Gleichzeitig wurde ein 70 g schweres, gleichaltriges Meerschweinchen J III mit 3 ccm des gleichen Mischserums mittels gewöhnlicher Pipette gefüttert. Das Tier wurde 10 Tage lang genau beobachtet. Damit eine ständige Kontrolle des Urins ermöglicht war, wurde es während des Tages in ein Glasgefäfs gesetzt, das mit weifsem Fliefspapier ausgelegt war.

Das Tierchen blieb völlig munter und nahm an Gewicht stetig zu, es wurde niemals auch nur eine Spur von Hämoglobin mit dem Urin sezerniert.

Irgendwie stärkere Hämoglobinurie müfste sich ja durch eine rötliche Färbung des bei jungen Tieren hellen und klaren Urines kundgeben. Ich liefs mir aber daran nicht genügen, sondern löste den auf dem Filtrierpapier eingetrockneten Urin in physiologischer Kochsalzlösung und untersuchte mit dem Spektralapparat. Es gelang nicht, die bekannten Streifen des Hämoglobins nachzuweisen.

3. Meerschweinchen L II, 70 g schwer, wenige Stunden alt, bekam am 17. XII. 1903 mittels gewöhnlicher Pipette per os im Laufe des ganzen Tages $6^1/_2$ und am folgenden Morgen nochmals 1 ccm, zusammen also $7^1/_2$ ccm — diesesmal inaktivierten — hämolytischen Serums vom Kaninchen $\gamma$.

Es blieb völlig gesund, sezernierte nie hämoglobinhaltigen Urin (auch spektroskopisch geprüft).

4. Das gleiche Resultat ergab die Verfütterung von $8^1/_2$ ccm inaktiven Serums des Kaninchens $\gamma$ an ein 90 g schweres Meerschweinchen M III am ersten und dritten Lebenstage (31. XII. 03 und 2. I. 04) und von $8^1/_2$—9 ccm des gleichen Serums an sein 90 g schweres Geschwister M IV an den gleichen Tagen.

Nachdem diese Versuche alle völlig negativ ausgefallen waren, setzte ich die Untersuchung zunächst auf anderen Gebieten fort, um erst im Juni 1904 wieder auf das hämolytische Serum zurückzukommen. Das frisch entnommene Serum des Kaninchens $\beta$ hatte am 21. VI. 1904, nachdem das Tier ein halbes Jahr nicht mehr behandelt worden war, bei der oben geschilderten Versuchs-Anordnung noch starke hämolytische Wirkung, ein Tierversuch (v IV, 70 g schwer) zeigte aber doch, dafs eine weitere Steigerung noch von nöten sei. Es wurde deshalb vom 27. VI. 04 an wieder die Injektion mit Erythrocythen vom Meerschweinchen vorgenommen. Am 19. VII. ergab die Prüfung des Serums, genau nach der auch bei Sachs referierten Ehrlich und Morgenrothschen Vorschrift vorgenommen:

| | Menge des hämol. Serums | Resultat nach 2 h |
|---|---|---|
| 1 ccm einer 5proz. Aufschwemmung reiner Meerschwein-Blutkörperchen in 0,85proz. Na Cl-Lösung versetzt mit . . . . . (Gesamtvolum der Flüssigkeiten je 2 ccm) | 0,2 ccm | komplette Lösung |
| | 0,1 » | |
| | 0,05 » | fast kompl. Lösung |
| | 0,025 » | |
| | 0,01 » | mäfsige Lösung |
| | 0,005 » | geringe Lösung |
| | Kontrolle | — |

Ein 4 Tage altes, 70 g schweres Meerschweinchen $\gamma$ II bekam am gleichen Tag 1 ccm dieses Serums subkutan unter die Bauchhaut gespritzt. Es starb mit starker Hämoglobinurie nach $1^1/_2$ Tagen. Bei der Obduktion zeigte sich eine grofse blaurote Milz, stark rotes z. T. wie von flüssigem Blute erfülltes Knochenmark der Oberschenkel, stark blutiger Urin in der Blase.

Mit diesem ausgezeichnet wirksamen Serum wurde nun der folgende Versuch vorgenommen. Derselbe unterscheidet sich von den vorausgehenden durch die aufserordentliche Menge des verfütterten Serums. Weiterhin genügte mir hier nicht die einfache Beobachtung des Tieres, sondern ich nahm häufige Blutkörperchen-Zählungen vor, um eventuelle Veränderungen in der Zahl der roten Blutkörperchen feststellen zu können, auch wenn kein Hämoglobin durch die Nieren ausgeschieden würde. Durch Cantacuzène wissen wir ja, dafs geringste Mengen des hämolytischen Immunserums eine Vermehrung, gröfsere Mengen erst eine Auflösung und somit Verminderung der roten Blutkörperchen beim lebenden Tier hervorzubringen vermögen.

Schliefslich dehnte ich dabei die Untersuchung noch auf einen anderen Punkt aus, nach dem folgenden Gedankengang: Wenn wirklich hämolytisches Serum durch den Magendarmkanal des Neugebornen unverändert in seinen Kreislauf eindringen könnte, so müfste bei länger fortgesetzter Fütterung mit solchem Serum genau der gleiche Vorgang eintreten, wie wenn dasselbe wiederholt in den Körper und somit in das Blut des Versuchstieres eingespritzt würde, d. h. es müfste unter diesen Bedingungen der Tierkörper nach allgemein gültigen Gesetzen mit der Bildung spezifischer Antikörper reagieren, in diesem Falle also mit der Bildung von Anti-Hämolysinen. Durch den Nachweis (oder Nichtnachweis) dieser Stoffe mufste somit der vorliegende Versuch zum Experimentum crucis in dieser Frage werden.

**Versuch.**

Meerschweinchen 3. I., 90 g schwer, in der Nacht geboren, wird mit hämolytischem Serum von Kaninchen $\beta$ gefüttert.

Blutkörperchenzählung vor Anstellung des Versuchs am ersten Lebenstag (25. VII. 1904 nachm. $^1/_4$5 Uhr) ergibt mit Zeifsscher Kammer bei Zählung von 64 Feldern: 6800000.

Am 25. und 26. VII. wurden im ganzen mittels Ballpipette 16 ccm aktives und 2 ccm inaktives Serum verfüttert.

27. VII. Vormittag und Nachmittag im ganzen 7 ccm inaktiven Serums verfüttert. Gewicht 110 g.

28. VII. Vorm. 5 ccm inaktiven, Nachm. 5 ccm aktiven Serums verfüttert. Gewicht 120 g.

Blutkörperchenzählung (wie oben) am Nachmittag: 6 250 000.

Urin, wiederholt am Nachmittag gelassen, ist völlig klar. Spektroskopisch: kein Hämoglobin.

29. VII. Am Nachm. 7 ccm aktiven Serums verfüttert. Gewicht 120 g.

30. VII. Vorm. 5 ccm aktiven Serums verfüttert. Gewicht 125 g.

1. VIII. Gewicht 145 g. Blutkörperchenzählung am Morgen (ausnahmsweise mit der Hälfte der gewöhnlichen Blutmenge vorgenommen) 4 787 500.

2. VIII. Gewicht 150 g.

3. VIII. Gewicht 165 g Blutkörperchenzählung am Morgen (mit der gewöhnlichen Blutmenge): 5 968 750.

6. VIII. Gewicht 150 g. Blutkörperchenzählung am Morgen (wie gewöhnlich): 6 556 250.

Der Urin war bis dahin stets ohne Hämoglobinbeimengung.

Mittags 11 Uhr: Entblutung durch Halsschnitt. Bei der Obduktion zeigte sich in der Blase klarer Urin.

Dies kleine Versuchstier bekam also in 6 Tagen nahezu 50 ccm hämolytisches Serum per os verfüttert. Hierbei wurde teils inaktives teils aktives Serum genommen, und zwar wurde auch letzteres benutzt, um einem eventuellen Einwand vorzubeugen, dafs das Blut des jungen Tieres zu wenig Alexin besitze, als dafs die hämolytische Eigenschaft resorbierten inaktivierten Serums zur Wirkung gelangen könne. Die Fütterungen wurden teils bei gefülltem, teils bei durch mehrstündiges Hungern leerem Magen vorgenommen, um die Magensaft-Sekretion unter verschiedenen äufseren Verhältnissen zur Geltung zu bringen.

Während der ganzen Dauer des Versuches konnte keine Hämoglobinurie beobachtet werden. Die Zählung der roten Blutkörperchen ergab vor Beginn der Fütterung:

6 800 000, dann

aufeinanderfolgend die Werte von

6 250 000,
4 787 500,
5 968 750 und am Ende des Versuches
6 556 250.

Hierzu mufs bemerkt werden, dafs die Zählung der roten Blutkörperchen bei so kleinen Tieren ziemliche Schwierigkeiten macht. Ein Schnitt durch die Ohrhaut (Ohrvene) genügt oft nicht, um das notwendige Blut zu erhalten, und man mufs in diesem Falle zu kleinen Einschnitten in die Bauchhaut seine Zuflucht nehmen; auch da kommt es oft vor, dafs das Blut so lange braucht, um in genügender Menge auszufliefsen, dafs es schon in der kleinen Saugpipette geronnen ist, ehe man dazu kommt, die zur Verdünnung dienende physiologische Kochsalzlösung nachzusaugen. So bin ich manchmal überhaupt zu keiner Zählung gekommen, und gerade am 1. VIII., wo das auffällige Resultat eines Wertes von ca. 4¾ Millionen gefunden wurde, mufste ich — um überhaupt eine solche ausführen zu können — mit der Hälfte der sonst immer benutzten Blutkörperchenmenge mich begnügen. Ich glaube wohl, dafs hierdurch eine Fehlerquelle geschaffen wurde, aber immerhin stehen die fünf aufeinanderfolgenden Blutkörpercheuwerte ihrer Gröfse nach in einem kontinuierlichen Zusammenhang. Wenn auch nach Cantacuzène durch Eindringen einer kleinen Menge des spezifisch hämolytischen Serums in das Blut eine vorübergehende Zunahme der Erythrozythen zu erwarten gewesen wäre, so lassen unsere Zählungen vielleicht doch den Rückschlufs zu auf eine kurzdauerude Abnahme der roten Blutkörperchen; mit dem Aussetzen der Fütterung des hämolytischen Immunserums würde dann die Erythrozythenzahl rasch zur alten Höhe angestiegen sein. Das Fehlen jeglicher Hämoglobinurie beweist aber auf jeden Fall, dafs es sich nicht um eiue umfangreichere Zerstörung der roten Blutkörperchen gehandelt haben kann; und wenn wir somit wirklich zu dem Resultat gelangen würden, den Eintritt von verschwindend kleinen Mengen des verfütterten Serums in das Blut anzunehmen, so würdeu wir damit nur die Regel bestätigt finden, die sich schon aus Versuchen von Ascoli, Uhlenhuth und Michaelis und Oppenheimer ergeben hat. Es gelang diesen nämlich bei erwachsenen Tieren nach wiederholt per os eingeführten grofsen Eiweifsmengen später spezifische Präzipitine im Blute nachzuweisen. Diese Befunde werden ja durch die plötzliche

Überschwemmung des Magens genügend erklärt, die es für den Augenblick nicht zu entsprechend grofser Verdauungssaft-Absonderung kommen läfst.

Die Untersuchung des Serums der mit so gewaltigen Mengen spezifisch hämolytischer Stoffe gefütterten Jungen auf Anti-Hämolysingehalt ergab aber ein vollkommen negatives Resultat. Sie wurde zu wiederholten Malen vorgenommen, wobei die Menge der auf Anti-Hämolysingehalt geprüften Flüssigkeit verschieden grofs war. Es bedarf kaum der Erwähnung, dafs erst in Vorversuchen die Kraft des zu diesen Experimenten benutzten hämolytischen Serums genau wieder-festgestellt war, und dafs den eigentlichen Versuchen stets der reine Hämolyse-Versuch parallel ging.

Darnach bin ich doch der Meinung, dafs die gröfseren Differenzen bei den Blutkörperchenzählungen nur durch die geschilderte Fehlerquelle zu erklären sind.

## Versuche mit Kasein.

Ich komme nun zur Schilderung der Versuche mit Verfütterung von Kuhmilch. Jegliche Milch enthält bekanntlich ganz verschiedenartige genuine Eiweifskörper, als deren wichtigste ich das Serumeiweifs und das Kasein nenne.

Nun wäre es ja schon an und für sich interessant gewesen, den Nachweis zu versuchen, ob auch diese beiden Stoffe durch den Magendarmkanal des Neugebornen in seine Blutbahn übergehen können, es lag aber eine ganz besondere Pflicht zu diesen Untersuchungen vor infolge der Stellungnahme v. Behrings gerade zur Resorption des Kaseins vom Intestinaltrakt des Neugebornen aus. In einem zu Anfang 1904 in der Woche erschienenen populären Aufsatz »Säuglingsmilch« erklärt v. Behring, dafs der Säugling mit dem Serum-Eiweifs eine zur Bluts- und Gewebsbildung unmittelbar geeignete Nahrung in sich aufnimmt, während das Kasein »bei der direkten Aufnahme in das Blut neugeborener Kinder geradezu

wie ein Gift« wirke. Er sagt dann an späterer Stelle: Während gröfsere Kinder und erwachsene Menschen die relativ grofsen Kügelchen (Moleküle) von genuinem hämatogenem Eiweifs —... — durch ihre Schleimhäute nicht hindurch lassen, verhalten sich dem gegenüber die intestinalen Schleimhäute der Säuglinge bis zum Alter von drei bis vier Wochen wie feinporige Filter. Selbstverständlich gehen da aber nicht blofs die in der Milch enthaltenen Teilchen von hämatogenem Eiweifs, sondern auch die eher noch etwas kleineren Käsestoffteilchen in die Blutbahn über. Sie wirken daselbst wie Fremdkörper, deren sich das Blut wieder entledigen mufs, und damit hängt ihre schädliche Wirkung zusammen.«

Von den Bedenken, die sich gegen diese Annahme des Kaseinübertritts in das Blut sofort einstellten, will ich erst nach Schilderung meiner Versuche sprechen.

Selbstverständlich konnte sich der Nachweis des Kaseins — nur nach diesem genuinen Eiweifs der Milch habe ich gefahndet, und nur von ihm wird im folgenden die Rede sein — nicht auf chemische Methoden stützen, aber wir haben ja in den letzten Jahren durch die biologische Forschung Reagentien kennen gelernt, die ungemein viel feiner und spezifischer arbeiten als die chemischen und ein solches Reagenz besitzen wir für das Kasein in dem Laktoserum.

Das Laktoserum wird in entsprechender Weise, wie das oben für das hämolytische Immun-Serum geschildert wurde, dadurch hergestellt, dafs man Tieren Kuhmilch in angemessenen Abständen subkutan injiziert. Das Blutserum so behandelter Tiere (Kaninchen) enthält nach einiger Zeit einen Stoff, der die Eigenschaft besitzt, jegliches Kuh-Kasein aus Flüssigkeiten auszufällen, zu präzipitieren. Man kann durch diesen Präzipitations-Vorgang in klaren Medien schon allerkleinste Spuren durch die bald auftretende Trübung nachweisen.

Nachdem die Versuche, mittels Rohmilch ein Laktoserum herzustellen, durch den frühzeitigen Tod der dazu benutzten Tiere immer wieder vereitelt waren, entschlofs ich mich, von der-

selben[1]) abzugehen und verwandte nun nach dem Forster-Gerberschen Verfahren hergestellte Milch zu diesen Injektionen.

Dies Verfahren hat einerseits den Vorteil, die pathogenen Bakterien der Milch abzutöten, anderseits verändert es das Kasein in keiner Weise.

Mit dieser Milch (wöchentlich 2 malige Injektion von je 10 ccm) kam ich sofort zum Ziel.

Am 6. und 7. VI. 1904 wurde den beiden seit $3\frac{1}{2}$ Wochen behandelten Kaninchen ($\iota$ und $\varkappa$) Blut entnommen. Beider Serum zeigte in abgerahmter Milch in der Verdünnung von 1 : 360 noch deutliche Ausfällung und Niederschlagsbildung (siehe unten).

Ehe ich nun zur Schilderung meiner Milch-Fütterungs-Versuche übergehe, will ich noch erwähnen, dafs von der vierten Woche ab die beiden Kaninchen deutlich an Gewicht abzunehmen begannen. Das eine wurde nach der letzten Injektion so hinfällig, dafs es zu Beginn der 6. Woche getötet werden mufste, nachdem es im ganzen 7 mal 10 ccm Gerber-Milch eingespritzt bekommen hatte. Die Prüfung des Serums ergab jetzt, dafs offenbar unter der schweren Reaktion des Körpers gegen die letzten Injektionen fast jegliche präzipitierende Wirkung wieder geschwunden war.

Ähnliche Vorgänge finden wir ja bei der isopathischen Immunisierung der Pferde beim Tetanus, wo in der Reaktionszeit der Immunisierungswert des Blutserums abnimmt, und — wie Dieudonné angibt — die bis dahin im Harn nachweisbaren immunisierenden Substanzen aus diesem verschwinden, ja sogar manchmal tetanusgifthaltigem Harn Platz machen.

Um nicht ein gleiches Mifsgeschick am andern Kaninchen zu erleben, nahm ich seine Entblutung vor. Das Serum verursachte noch deutliche Präzipitation in abgerahmter Milch, 1 : 360

1) Ich hatte deshalb Rohmilch genommen, um jeglichem Einwand begegnen zu können, der vielleicht gegen die Benutzung gekochter Milch zur Herstellung eines brauchbaren Laktoserums hätte gemacht werden können. Angaben der Literatur freilich erweisen, dafs durch Injektion gekochter Milch (nach dem Bericht von Hippius sogar durch Einspritzung 1 Stunde lang bei 120° im Autoklaven sterilisierter Milch) ein vollwirksames Laktoserum erhalten werden kann.

verdünnt, wenn man auch nur 1 Tropfen zu 2 ccm der Milchverdünnung zusetzte. Wie ad hoc angestellte Versuche zeigten, wurde die Reaktion nicht gehemmt, wenn gröfsere Mengen des Blutserums normaler Neugeborner den einzelnen Röhrchen beigemischt waren. Mit Serum von obigem Tiere wurden alle die folgenden Untersuchungen vorgenommen.

I. Meerschweinchen m I, 80 g schwer, etwas über 1 Tag alt, bekommt mittels Ballpipette per os am

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 24. V. 1904 | abends 6 Uhr | 2 ccm | Gerbermilch | |
| 25. V. | morgens 9 Uhr | 3 „ | „ | während des Tages im übrigen hungernd. |
| | „ 11 „ | 2 „ | „ | |
| | nachm. 4 „ | 2 „ | „ | |
| 26. V. | morgens 9 „ | 3 „ | „ | |
| | „ ¾11 „ | 2 „ | „ | |
| | „ 12 „ | durch Halsschnitt entblutet. | | |

Bei der Untersuchung mit unserem Laktoserum auf etwaige Kaseinbeimengung wurde stets so verfahren, dafs fallende Mengen des zu untersuchenden Blutserums mit steriler physiologischer Kochsalzlösung auf ein gewisses Volumen gebracht wurden. Dann wurde jedem Röhrchen eine gröfsere Menge des wirksamen Laktoserums, in diesem Falle waren es je 10 Tropfen, zugesetzt.

Es zeigte sich hier nicht die geringste Präzipitation.

Die verschieden starken Verdünnungen des auf Kaseingehalt zu prüfenden Serums wurden deshalb vorgenommen, weil — wie wir vor allem durch L. Michaelis und Rostoski wissen — starke Eiweifskonzentration als solche die Präzipitinreaktion verhindert (R.), und die Wirkung schwach wirksamer Präzipitine nur dadurch sich zeigen läfst, dafs man viel Präzipitin mit wenig präzipitabler Substanz mischt, da sonst infolge des Überschusses an präzipitabler Substanz die Reaktion überhaupt nicht zustande kommt (M.). Wir wissen ferner durch Michaelis, dafs der Regel nach bei der Präzipitinreaktion der Niederschlag durch einen Überschufs der präzipitablen Substanz wieder gelöst wird.

Um auch dieser Möglichkeit zu begegnen, wurde — nachdem der obige Versuch negativ ausgefallen war — eine weitere Verdünnung durch Zusatz abgemessener Mengen von physiologischer Kochsalzlösung herbeigeführt, aber ohne dafs dadurch das

negative Resultat des Versuchs eine Anderung erfahren hätte.

II. Meerschweinchen m II, 80 g schwer, vom gleichen Wurf wie das vorige, bekommt am 24. V. 1904 nnd am Morgen des 25. V. insgesamt 7 ccm Milch. Entblutung am 25. V. mittags 12 Uhr.

Versuchsanordnung nnd Ergebnis genau wie bei I.

III. Meerschweinchen t I, 70 g schwer, wenige Stunden alt, bekommt mit Ballpipette per os am 9. nnd 10. VI. 1904 zusammen 12 ccm Milch. Am 10. VI. nachmittags $^1/_2$6 Uhr, also $1^1/_2$ Stunden nach der letzten Fütterung Entblntung durch Halsschnitt.

Gleichzeitig wird nach Eröffnung des Peritoneums der Inhalt der Blase steril aufgefangen.

Wir hatten in diesem Fall genügend Serum des Jungen, um Mengen von 0,2 ccm abwärts zur Prüfung nehmen zu können. Der Laktoserum-Zusatz betrug je 3 Tropfen. Selbstverständlich wurden zahlreiche Kontrollen angestellt.

Das Blutserum enthielt kein Kasein.

Nun nahm ich in diesem Falle auch eine Untersuchung des Blasen-Urins auf etwaige Kaseinbeimengungen vor.

Wir wissen ja aus der Physiologie, und ich stütze mich im folgenden vor allem auf die Angabe Neumeisters, dafs die Nieren die Aufgabe haben, die Zusammensetzung des Blutes zu überwachen, indem sie alles Fremdartige und Überschüssige ausscheiden, und dafs sie diese Aufgabe so prompt erfüllen, »dafs man zur Prüfung, ob ein Eiweifsstoff direkt resorbierbar ist, denselben uur in das Blut zu injizieren braucht.«

Es hat sich nun bei solchen Untersuchungen, wie sie in grofser Anzahl vorgenommen worden sind, gezeigt, dafs von Proteinsubstanzen nicht direkt assimilierbar sind: das genuine Eieralbumin, das Kasein, der Blutfarbstoff und das Glutin. Hier mag auch eine Arbeit von Gürber und Hallauer aus allerletzter Zeit Erwähnung finden, in der nach intravenöser Injektion von Kasein im Harn dieser Stoff unverändert nachgewiesen werden konnte.

Es müfste also nach diesen Gesetzen ein Teil des Kaseins, falls solches in das Blut durch die Fütterung übergetreten wäre, bereits wieder in den Harn ausgeschieden worden sein.

Die Untersuchung des Harns mit dem Laktoserum ergab, dafs kein Kasein in demselben war.

Der Versuch war abends ½7 Uhr angestellt, die Röhrchen standen über Nacht im Eisschrank. Am folgenden Morgen fand sich das Kontrollröhrchen völlig klar, das mit Laktoserum versetzte Röhrchen dagegen zeigte deutliche, diffuse Trübung ohne Bodensatz. Die mikroskopische Prüfung diese Sediments (zur exakten Sedimentierung bediente ich mich stets der Wasserzentrifuge) zeigte lediglich eine grofse Menge charakteristischer Kristalle von Oktaederform, die in Essigsäure nicht löslich waren — es handelte sich offenbar um oxalsauren Kalk — und ich habe davon die Vorstellung, dafs die Oxalsäure aus dem Grünfutter stammen mufs (das sich schon am Tage der Geburt im Magen jedes Meerschweinchens finden läfst), der Kalk dagegen aus dem Laktoserum[1]).

IV. Meerschweinchen t II, 70 g schwer, vom gleichen Wurf.

Genau ebenso und gleichzeitig behandelt wie das vorige.

Resultat in allen Punkten das gleiche negative (bei zweimaliger Prüfung).

V.—VII. Weiter führe ich einen Versuch mit 3 jungen Meerschweinchen vom selben Wurf an, (R III, R IV, R V, 75 g, 75 g, 100 g schwer), die vom Tag der Geburt an mit roher Milch gefüttert wurden. Sie bekamen am 13. und 14. VI. 1904 mittels Ballpipette je 12 ccm Milch und wurden eine Stunde nach der letzten Fütterung am Abend des 14. VI. entblutet.

Der Urin wurde aus den abgebundenen Blasen steril aufgefangen. Die Prüfung des Blutserums auf Kaseingehalt wurde gemeinsam vorgenommen, gleichzeitig wurde zur Kontrolle das Serum von 4 neugebornen unbehandelten Meerschweinchen (u I—IV) in der nämlichen Weise geprüft.

Nach 5½ Stunden zeigten sich die sämtlichen Röhrchen noch völlig klar.

---

1) Im Urin von Säuglingen liefs sich oxalsaurer Kalk bei wiederholten Untersuchungen nicht nachweisen. Saikowski fafst übrigens den oxalsauren Kalk im Urin als ein Abbauprodukt von Nukleinen, nicht nur von Pflanzen auf.

Erst über Nacht stellte sich eine Trübung ein, die in gleicher Weise abgestuft — sowohl im Serum der milchgefütterten wie der unbehandelten Tiere sich zeigte, soweit Laktoserum zugesetzt war, nicht aber in den Kontrollröhrchen, die statt des Laktoserums nur physiologische Kochsalzlösung zugesetzt bekommen hatten.

Die mikroskopischen Präparate des zentrifugierten Sedimentes ergaben nadelförmige Kristalle, offenbar von neutralem phosphorsaurem Kalk, am nächsten Tag auch unregelmäfsige Körnchen, wohl ebenfalls phosphorsauren Kalks — $Ca_3 (PO_4)_2$.

Über Salzniederschläge bei Präzipitinversuchen hat schon Ascoli im Jahre 1902 berichtet. Die eben niedergelegten Beobachtungen zeigen, wie wichtig es ist, jeden Niederschlag bei Präzipitin-Reaktionen auch mikroskopisch zu identifizieren.

Eine Beobachtung der angestellten Versuche, länger als die ersten Stunden hindurch schien mir auf jeden Fall wünschenswert, und ich habe lieber mir die Mühe genommen, erst später auftretende Niederschläge noch mikroskopisch zu untersuchen, als dafs ich einen Versuch schon für negativ erklärte, bei dem in den ersten Stunden die Flüssigkeiten ungetrübt geblieben waren.

Um so gröfsere Beweiskraft müssen natürlich die vorliegenden Untersuchungen haben.

Mit dem Mischurin der 3 R-Tiere angestellte Versuche ergaben ebenfalls völliges Freisein von Kasein-Präzipitat, aber wiederum Kristallniederschläge von der gleichen Art wie in dem Blutserum. Es mag hinzugefügt werden, dafs ein zur Kontrolle in derselben Zeit mit Laktoserum untersuchter Blasenurin eines älteren Meerschweinchens (♀) den gleichen Kristallbefund darbot, aber aufserdem noch harnsaure Salze enthielt.

VIII.—XII. Das Folgende stellt einen Versuch im Grofsen dar. Er wurde gleichzeitig mit 5 Jungen unternommen (h I, h II, i I, je 80 g schwer, 2 Tage alt, k I und k II, 80 g schwer, einige Stunden alt). Sie erhielten ganz bedeutende Mengen Milch verfüttert, und der Zweck war, während des Lebens im Urin den Kaseinnachweis zu versuchen, vor allem aber nach einem ähn-

lichen Gedankengang wie bei dem letzten Experiment mit hämolytischem Serum — zu prüfen, ob durch die andauernde Verfütterung der grofsen Kaseindosen vielleicht ein Laktoserum gewonnen werden könnte. Somit mufs also auch dieser Versuch bei der Entscheidung der Kaseinfrage das Experimentum crucis darstellen.

Leider war es nicht möglich, den Urin der Tiere während des Versuches so aufzufangen, dafs jede Berührung mit den Fäces vermieden werden konnte. Eine Entnahme des Harns mittels Katheter war natürlich bei den kleinen Tieren ausgeschlossen.

Am 17. VI. 1904 wurde verfüttert:

vormittags 12 Uhr je 2 ccm Gerber-Milch
nachmittags 2 „ „ 2 „ „
„ 4 „ „ 2 „ „
„ 6 „ „ 2 „ „
„ ½6 Uhr erste Urinentnahme.

Am 18. VI. 1904 erhielten die Tiere je 10 ccm Gerbermilch (nm 9, 11, 2, 4 und 6 Uhr).

Am Abend wurden sie zur Mutter zurückgesetzt und blieben dort während des 19. VI. (Sonntags).

20. VI. 04. Tagsüber bekam jedes Tier je 6 ccm Gerbermilch (2, 4 und 6 Uhr).

21. VI. Die Tiere bekamen im Laufe des Tages je 10 ccm Gerbermilch.

22. VI. Verfütterung von je 10 ccm Rohmilch.

23. VI. Verfütterung von je 12 ccm Gerbermilch.

24. VI. Die Tiere zur Mutter gesetzt (Feiertag).

25. VI. Verfütterung von je 12 ccm Rohmilch.
Gewicht von 3 Tieren noch je 80 g, von zweien je 100 g.
Stuhl stets geformt.

26. VI. Die Tiere zur Mutter gesetzt (Sonntag).

27. VI. Verfütterung von je 8 ccm Gerbermilch.

28. VI. Verfütterung von je 12 ccm Gerbermilch. Der Urin von diesem Tag wird nochmals znr Untersuchung benutzt.

Am Abend kommen die Tiere zur Mutter zurück.

4. VII. Die Tierchen haben, seit sie wieder an der Mutter saugten, an Gewicht zugenommen (Gewicht von dreien je 100, von zweien je 120 g). Am Abend wurden sie durch Halsschnitt entblutet, ihr Serum wurde gemeinsam verarbeitet.

Von einer Untersuchung des Serums auf Kasein konnte abgesehen werden, da die letzte Kuhmilch 6 Tage vor der Tötung

verfüttert war, also das dem Blut fremde Kasein sicher längst aus demselben ausgestofsen sein mufste, selbst wenn welches eingedrungen war.

Der Urin der fünf Tierchen vom ersten Fütterungstage wurde mit je fünf Tropfen Laktoserum in der alten Anordnung geprüft. Der Versuch wurde mittags angesetzt. Am Abend zeigte sich in den mit Laktoserum versetzten, aber nicht in den Kontroll-Röhrchen, Trübungen und zwar, je nach der Konzentration des Urins in fallenden Mengen. Die mikroskopische Untersuchung des Zentrifugates ergab wiederum Kristalle, allem Anscheine nach oxalsauren Kalks. Es fanden sich weiter körnige Gebilde, die aber im Färbepräparat wie Diplokokken aussahen.

Der Urin vom 28. VI. zeigte nach Anstellung der Laktoserum-Probe wiederum leichte Trübungen, deren Untersuchung sie mit Wahrscheinlichkeit als Kasein-Niederschläge ansprechen liefs. (Gleichzeitig untersuchter Urin des eben getöteten Laktoserum-Kaninchens zeigte diese Niederschläge nicht.)

Wenn somit in diesem letzten Urin die Anwesenheit geringer Kaseinmengen wahrscheinlich gemacht ist, so müssen wir folgendes überlegen:

Die eine Möglichkeit, die wir annehmen können, ist die, dafs das in Spuren gefundene Kasein im Urin selbst enthalten war. Dann müfste es wirklich durch die Nieren aus dem Blute ausgeschieden worden sein, und wir würden in dem Falle die aufserordentliche Überladung des Magendarmkanales mit der Kuhmilch (jedes einzelne Tierchen erhielt in der kurzen Zeit 88 ccm, also mehr als sein Anfangsgewicht) für den Durchgang der geringen Mengen des Kaseins verantwortlich machen müssen, es hätten eben — wie dies ja bei den früher zitierten Versuchen mit erwachsenen Tierchen von Ascoli, Uhlenhuth, Michaelis und Oppenheimer auch der Fall war — die Verdauungssäfte für den Augenblick nicht in genügender Menge für die in überreichlichen Portionen eingebrachten Kaseinmassen abgesondert werden können. Die zweite Möglichkeit, an die ich eigentlich mehr noch denke als

an die erste, ist die, dafs die niedergeschlagenen Kaseinteilchen gar nicht aus dem Urin selbst stammen, sondern aus den Fäces, die trotz aller angewendeten Vorsichtsmafsregeln doch nicht von der Berührung mit Urin ferngehalten werden konnten. Bei der Beurteilung dieser Frage müssen wir aber der Befunde von P. Th. Müller, Michaelis und Oppenheimer und F. Hamburger gedenken, dafs nämlich die Eiweifskörper, wenn sie von Pepsin-Salzsäure, in geringerem Grade, wenn sie von Trypsin[1]) verdaut werden, soweit verändert werden, dafs sie durch das entsprechende Immunserum nicht mehr gefällt werden können. Ein solches Verdauungsgemisch ruft auch, subkutan injiziert, nicht mehr die Bildung von Antikörpern hervor.

Es ist nun allerdings die Frage, ob solche Reagenzglasversuche sich ohne weiteres auf den tierischen Magendarmkanal übertragen lassen. Ich mufs schon die Meinung aussprechen, dafs bei der Fütterung mit so aufserordentlichen Mengen einer nicht adäquaten Nahrung im Darmkanal sich auch nicht gewöhnliche Vorgänge abspielen, und dafs da manche Bestandteile der eingebrachten Nahrung eben doch den Verdauungssäften entgehen können. Dafs die Kuhmilch in der Tat bei den fünf Jungen nicht »die richtige, (d. h. adäquate, gut ausbeutbare) Nahrung« war, geht am besten aus ihrer Gewichtskurve hervor, die erst wesentliche Zunahme zeigte, als die Mutterbrust wieder in ihre Rechte getreten war — eine Erfahrung, die wir in der Kinderheilkunde jeden Tag machen.

Also, ohne hier mich durch eine endgültige Entscheidung zu binden, möchte ich doch eher annehmen, dafs das Kasein in

1) Für die Milch ist dies (beim Trypsin) speziell von Müller und Hamburger nachgewiesen. Allein Obermeyer und Pick haben bei der Verdauung von Eiereiweifs merkwürdige Beobachtungen gemacht, die den oben allgemein ausgesprochenen Satz bedeutend einschränken. Läfst man nämlich Pepsinsalzsäure kurze Zeit auf Eiereiweifs einwirken, so gibt das Produkt der Verdauung mit dem zugehörigen Immunserum keine Reaktion mehr, trotzdem sich noch unveränderte Eiweifskörper chemisch nachweisen lassen. Dagegen findet man nach Trypsinverdauung noch die Präzipitation durch das Immunserum, auch wenn Eiweifs chemisch nicht mehr nachzuweisen ist.

diesem Falle der Pepsin-Salzsäure und dem Trypsin, als dafs es dem im Magen befindlichen Labenzym entgangen ist. Hierüber mufs ich mich noch später des weiteren aussprechen.

Zunächst aber will ich nun noch das Resultat der wichtigsten Prüfung berichten, ob nämlich durch die langdauernde Kuh-Kasein-Fütterung ein Kuh-Laktoserum entstanden ist.

Ich machte die Prüfung nebeneinander zweimal, sowohl mit roher wie mit Gerberscher Milch, indem ich je 3 ccm der abgerahmten Milch in Verdünnungen von 1:10 bis 1:360 mit je 1 ccm des Serums versetzte. Es ergab sich selbst bei mehrtägiger Beobachtung nicht der geringste Niederschlag.

Das Serum der so übermäfsig mit Milch gefütterten Jungen war also kein Laktoserum.

Dies stimmt überein mit den Untersuchungen von Moro und Hamburger, die weder bei mit Kuhmilch ernährten Tieren noch beim künstlich ernährten Säugling ein Laktoserum fanden.

Und dafs ein solches sich nicht finden kann, das beruht eben offenbar auf dem Vorhandensein des Labfermentes im Magen, das ja eine sofortige Gerinnung des Kaseins veranlafst.

Pawlow gibt an, dafs die Beschaffenheit sämtlicher Verdauungssekrete von der Art der eingeführten Nahrung abhängig ist. Die für die Verdauung der natürlichen Nahrung notwendigen Fermente sind bereits beim neugebornen Kinde vorhanden und die Ausscheidung der spezifischen Fermente ändert sich mit der Änderung der Nahrung.

Diese Angaben sind es wohl in der Hauptsache, die von Behring vorschwebten, wenn er sagt:

»Ich habe genügende experimentelle Anhaltspunkte für die Annahme, dafs Kasein verdauende Fermente überhaupt erst unter der Reizwirkung des Kaseinimports entstehen, genau so wie Antikörper gegen andere Proteingifte bei systematisch gesteigerter Giftzufuhr im lebenden menschlichen und tierischen Körper produziert werden, derart, dafs was ursprünglich ein Gift war, hinterher zum Nahrungsmittel werden kann; und ich bin der Meinung, dafs ich damit nicht blofs im Gleichnis rede, sondern

dafs wir es bei der Entstehung von Stoffen, die das Kasein unschädlich machen, mit einer Antikörperproduktion zu tun haben, die im Prinzip genau nach den Regeln abläuft, wie die Antikörperproduktion nach der Aufnahme von Diphtheriegift und Tetanusgift in das Blut von Versuchstieren.«

Diesem Gedankengang folgend, nimmt von Behring an, dafs der fermentative Antikörper »für das Kasein in seiner Eigenschaft als ursprüngliches Toxoprotein — dem Menschen verloren gehen kann, wenn er gänzlich aufhört, Milchnahrung zu sich zu nehmen« und er schliefst weiter, dafs übermäfsige Kaseineinverleibung bei einem neugebornen Kinde, »das noch nicht vorher durch kleinere Kaseindosen gewissermafsen immunisiert worden ist, ebensogut eine akut verlaufende und zum Tode führende Vergiftung auslösen kann, wie eine zu grofse Diphtheriegiftdosis zu Beginn der immunisierenden Vorbehandlung«.

Nun glaube ich doch, dafs es der Mühe wert ist, dieser Ansicht in einigen Einzelheiten zu folgen und zu sehen, wie weit ihre Voraussetzungen zutreffen.

Pawlow sagt, wie wir gesehen haben, die für die Verdauung der natürlichen Nahrung notwendigen Fermente seien bereits beim neugeborenen Kinde vorhanden. Dies ist aber nicht der Fall bei den Antikörpern der bakteriellen Gifte, soweit sie nicht vererbt sind[1]). Sollten wir uns nun vorstellen, dafs das Labenzym in derselben Weise vererbt werden kann wie das Diphtherie-Antitoxin? Und wenn wir wirklich uns mit dieser Vorstellung abfinden könnten, wüfsten wir dann eine Erklärung dafür, dafs ein solcher vererbter Stoff nicht im Blutserum sich findet, sondern nur von der Magenschleimhaut abgeschieden wird, wenn Milch in den Magen gelangt?

Und nun mufs ich des weiteren darauf hinweisen, dafs das Labenzym ja dasselbe ist für die Milch der Mutter wie für die nicht adäquate Milch, in unseren Fällen also die Kuhmilch.

Die Muttermilch ist aber für den Säugling die ideale Nahrung, das ist der oberste Lehrsatz in der

1) Hierüber verweise ich auf die später folgenden Versuche mit dem Diphterie-Antitoxin.

Kinderheilkunde, und für die ideale Nahrung kann gewifs kein Gegengift notwendig sein.

Man hat sich deshalb auch eingehend in der Kinderheilkunde mit dem Labenzym beschäftigt. Über die chemischen Prozesse, welche dasselbe hervorruft, herrscht jetzt völlige Klarheit, vor allem dank der Arbeiten von Hammarsten, Sölduer, Escherich, Courant und Arthus und Pages.

Hammarsten wies nach, dafs seine Wirkung darin besteht, dafs bei seiuer Gegenwart Kasein so verändert wird, dafs es bei Anwesenheit von Kalksalzen gerinnt, wobei das Parakasein uud das Molkeneiweifs entstehen.

Auch dieser Prozefs, glaube ich, ist ein anders verlaufender, wie die Bindung von Toxin und Antitoxin[1]). Allein auf dies ungemein komplizierte Thema kann ich hier nicht weiter eingehen.

So gut wir aber auch über die chemischen Prozesse unterrichtet sind, die das Labeuzym hervorruft, so macht sich, wie Czerny und Keller aussprechen, der Mangel an Untersuchungen um so fühlbarer, welche die Bedeutung der Kaseifikation für die Verwertung des Kaseins und der Kalksalze im Organismus aufklären.

Michaelis hat die Ansicht ausgesprochen, dafs die koagulierende Einwirkung des Labes die vorzeitige Resorption des Kaseins verhindere und auch Neumeister legt in seinem Lehrbuch die physiologische Bedeutung der Labgerinnung dahin fest, dafs sie »offenbar den Organismus vor einem Eindringen unveränderten Kaseins unter alleu Umständen schützen will«[2]), ohne dafs die auswählende Funktion der Darmepithelien in Anspruch genommen zu werden braucht.

1) Oppenheimer meint in seinem Ferment-Werk, die Fermentwirkungen auf dem Weg erklären zu können, den Ehrlich für die Toxine mit so grofsem Erfolg gegangen ist, sei »nur als tastender Versuch, als Befriedigung des Kausalitäts- und Analogiebedürfnisses des Verstandes .... bisher wenigstens, aufzufassen.«

2) Dafs diese Ansicht doch nicht allgemein in Fleisch und Blut übergegangen ist, ersehe ich aus einer Veröffentlichung von Schlofsmann aus der letzten Zeit. Dieser Autor glaubt — ohne dafür allerdings in seinen

Albrecht meint, indem er sich auf die Untersuchungen von Michaelis bezieht, für das Kasein sei, wenn M's. Annahme zu Recht bestehe, auch das Neugeborene durch das Labferment seines Magens bereits genügend »eingestellt«.

Indem ich mich nach meinen Versuchen vollkommen dieser Anschauung anschliefse, begründe ich damit, weshalb ich bei der Beurteilung des letzten Experiments den geringen, einmal nachgewiesenen Kaseingehalt des Urins auf die verunreinigenden Fäces zurückzuführen geneigt bin.

Einen Punkt mufs ich noch erörtern: Es könnte der Einwurf gemacht werden, der Titre unseres Laktoserums sei nicht genügend grofs gewesen. Damit hätte wohl der Nachweis gröfserer Kaseinmengen glücken können, nicht aber der kleinerer Diesem Vorwurf möchte ich einerseits begegnen mit dem Hinweis auf die folgenden Versuche mit Hühnereiweifs, wozu ich ein Antiserum mit dem Titre 1:30000 mir herstellen konnte. Anderseits möchte ich hier die Untersuchungen von Obermeyer sowie Hamburger und Sperck anziehen, die beweisen, dafs kleine Eiweifsmengen wiederholt ins Blut gespritzt (so klein, dafs sie dem Präzipitin-Nachweis entgehen), schon starke Antisera erzeugen. Bei unserem prolongierten Fütterungsversuch mit Kasein müfste darnach auf jeden Fall ein Laktoserum erzeugt worden sein, wenn eben nicht das Labenzym jegliches Kasein niedergeschlagen hätte.

Hier will ich noch einige Versuche einschalten, die ich mit menschlichen Körperflüssigkeiten vorgenommen habe.

Auf dem Hamburger Naturforscher- und Ärzte-Kongrefs des Jahres 1901 sagte Schlofsmann in der Diskussion zum Vortrage Moros: »Biologische Beziehungen zwischen Milch und Serum«, die Bordetsche Fällung gelinge am besten und vollkommensten, wenn man zum Serum des kindlichen Blutes Milch

---

Krankengeschichten einen Beweis beibringen zu können (der doch experimentell leicht möglich wäre) — dafs beim Abstillen usw. (also am Ende der Säuglingsperiode noch) durch Eindringen von fremder Milch ins Blut Vergiftungserscheinungen entstehen können.

der eigenen Mutter hinzusetze. »Hier zeigt sich deutlich das enge Band, das zwischen den Bluteigenschaften von Mutter und Kind besteht. Bei meinen Demonstrationen über diesen Gegenstand benutzte ich stets, um eine recht klare Fällung zu bekommen, Hydrocelenflüssigkeit eines Brustkindes, die ich mir durch Punktion verschaffe, und der Milch [soll wohl heifsen: die Milch] der Mutter dieses Kindes. Ich kann dieses Verfahren allgemein empfehlen.«

Diese Äufserung kann wohl nicht anders aufgefafst werden, als dafs Schlofsmann annahm, im Blutserum (Hydrocelenflüssigkeit) des Säuglings sei — jedenfalls durch den Säugungsakt — ein Präzipitin gegen die Milch der eigenen Mutter gebildet, eine Anschauung, die allen im vorhergehenden geschilderten Versuchen widerspricht. Zur Prüfung dieser Behauptung nahm ich die folgenden Versuche vor:

I. 21. VI. 1904. Kind Fleiner (Poliklinik des v. Hannerschen Kinderspitals), 14 Tage alt, nie von der Mutter gesäugt wegen früherer Mastitis, künstlich ernährt, mit rechtsseitiger Hydrocele. Die Punktion der Hydrocele ergab viel klare, bernsteingelbe Flüssigkeit. Es gelang, der Mutter noch eine geringe Menge sehr fettreicher gelblicher Milch aus der Brust auszupressen. Die Milch wurde verdünnt (1 : 30,—1 : 120,—1 : 360) und wie bei den früheren Versuchen das Laktoserum, so wurde hier Hydrocelenflüssigkeit (1 ccm) zu den Milchverdünnungen (3 ccm) zugesetzt. 1 Stunde nach Anstellung des Versuchs war noch keine Veränderung zu sehen, später traten bei den Verdünnungen 1 : 30 und 1 : 120 eigenartige Erscheinungen auf. Sie bestanden darin, dafs sich in dem Röhrchen, es nach und nach ganz durchsetzend, eine Art Gerinnsel bildete, das mit der Platinöse herausgefischt werden konnte und annähernd die Konsistenz des Glaskörpers hatte. In dem gerinnselbefreiten Zentrifugat der Röhrchen fand sich mikroskopisch nicht die Spur von Kasein-Niederschlag.

II. 22. VI. 1904. In der Poliklinik des von Hannerschen Kinderspitals punktierte ich dem 12 Wochen alten Kind Rosenberger, das noch täglich 5—6mal an der Mutter trank, dazu etwas Beinahrung erhielt, die linksseitige Hydrocele testis et funiculi spermatici. Der Mutter wurde reichlich etwas wässerig aussehende Milch abgedrückt. Versuchsanordnung mit zentrifugierten Milchverdünnungen und Hydrocelenflüssigkeit wie bei I.

Sämtliche Verdünnungen (bis 1 : 360) ergaben die gleiche Gerinnselbildung wie sie in Versuch I wahrgenommen wurde. In den Kontrollversuchen mit physiol. Kochsalzlösung fehlte dieselbe.

III. 27. VI. 1904. Dem Kinde Fleiner (Vers. I) wurde nochmals Hydrocelenflüssigkeit entnommen und dieselbe wurde in der gleichen Versuchsanordnung wie früher, aber nur bei Milchverdünnungen 1 : 10 zusammengebracht

1. mit der Milch der eigenen Mutter, die das Kind nicht gesäugt hatte,
2. mit der Milch einer anderen säugenden Frau (Leppmeier),
3. mit Kuhmilch.

In den beiden ersten Milchen trat sehr schnell starke Gerinnung ein, in der Kuhmilch zeigte sich die Gerinnung erst am folgenden Tag. Die Gerinnsel glichen bei diesen drei Milchen genau den oben beschriebenen.

IV. 30. VI. 1904. Mit Hydrocelenflüssigkeit des Brustkindes Kerbel der gleiche Versuch mit Milch der eigenen und mit Milch einer fremden säugenden Mutter.

Resultat: genau dasselbe (Eintritt mäfsiger Gerinnung sofort, über Nacht völlige Gerinnung).

Es konnte nach diesen Versuchen kein Zweifel sein, dafs diese Gerinnungserscheinung nichts Spezifisches im Sinne der Laktoserumreaktion sei. Kaseinniederschläge wurden nie im Sediment gefunden, die Gerinnsel hatten völlig den Charakter der Fibringerinnsel, und bei der Betrachtung derselben (die ein dichtes Fadennetz darstellten) durch das Mikroskop konnte man beim ersten Blick mit Sicherheit ausschliefsen, dafs der Prozefs mit dem Kasein der Milch irgend etwas zu tun habe.

In der Tat fand ich nach Abschlufs dieser Versuche in einer Arbeit von Moro diese Meinung völlig bestätigt. Arbeiten von Hamburger und Moro und von Bernheim-Karrer haben sich eingehend mit dem Fibrinferment der Milch befafst.

## Versuche mit Hühnereier-Eiweifs.

Die nachfolgenden Versuche mit der Verfütterung von Hühner-Eier-Eiweifs schliefsen sich den vorausgehenden ungezwungen an; ich möchte aber ausdrücklich betonen, dafs ich erst durch das Erscheinen der Ganghofner-Langerschen Arbeit zu ihnen angeregt worden bin.

Diese beiden Autoren haben an neugebornen Hunden, Katzen, Kaninchen und Zickeln und auch am menschlichen Säugling Verfütterungsversuche mit Rinderserum und Eiereiweifs vorgenommen und hierbei gefunden, dafs die genannten körperfremden

Eiweifsarten zum Teil unverändert resorbiert wurden. Diese Eigentümlichkeit liefs sich bei ihren Versuchstieren bis an das Ende der ersten Lebenswoche nachweisen und wurde vom 8. Tage an konstant vermifst. Auch beim menschlichen Säugling konnten Ganghofner und Langer ein ähnliches Verhalten feststellen. Der Magendarmkanal älterer Tiere liefs artfremdes Eiweifs bei stomachaler Einverleibung unter normalen Verhältnissen nicht durch. Jedoch bei übermäfsiger Eiweifszufuhr oder anatomischer bzw. funktioneller Schädigung des Magendarmepithels konnte auch bei älteren Tieren ein Übertritt von unverändertem Eiweifs in die Blutbahn konstatiert werden. In einem Fall (beim neugebornen Zickel) führte die Resorption des unveränderten Eiweifses zur Bildung von Antikörpern.

Aufser dieser Veröffentlichung liegt bis jetzt nur eine weitere vor, die sich mit derartigen Versuchen bei Neugeborenen beschäftigt, nämlich eine Arbeit von Hamburger und Sperk, die zu völlig entgegengesetzten Resultaten kommt. Den beiden Wiener Autoren gelang es weder bei Erwachsenen einen Übergang des verfütterten Eiweifses ins Blut nachzuweisen, noch auch bei Neugebornen (2 dreitägige Kälber, 4 menschliche Säuglinge im Alter von 5 Tagen bis 13 Wochen). Bei einem einzigeu ihrer Versuche (Kalb II) bezeichnen sie das Resultat als unsicher, insofern als das Blut des mit Pferdeserum gefütterten Tieres schon vor der Nahrungsaufnahme eine reichliche Fällung auf Anti-Pferdeserum gab. Quantitative Unterschiede der Serumprobeu vor und nach der Nahruugsaufnahme konnten aber nicht nachgewiesen werden.

Es gelang mir durch Iujektion von Eierklar, ein sehr gut wirkendes Anti-Hühuereiweifs-Serum herzustellen. Ich verfuhr ganz nach den Angaben von Uhlenhuth. Das sauber gereinigte Ei wurde vorsichtig aufgeschlagen uud das Weifse in ein steriles Becherglas eingebracht, in welchem es zusammen mit physiologischer Kochsalzlösung eine Weile mit einem sterilen Glasstabe geschlagen wurde. Jedesmal wurde das Weifse von 2 Hühnereiern einem Kaninchen in die Bauchhöhle eingespritzt, bei einem Gesamtvolum bis zu 100 ccm. Schon in der fünften Woche betrug der Titre

des Blutserums der beiden so vorbehandelten Kaninchen ($\mu$ und $\nu$) 1 : 30 000.

Die folgenden Versuche wurden (mit Ausnahme von Nr. I, bei dem ein Antiserum mit dem Titre 1 : 1000 verwendet ist) mit einem so hochwertigen Serum vorgenommen, das am Anfang der 6. Woche den Tieren entzogen wurde.[1])

I. 9. XII. 1904. Meerschweinchen Dd III, 60 g schwer, etwas über 24 Stunden alt, bekommt 3 ccm Hühnereiweifs mittels Ballpipette per os. Getötet $3^1/_2$ Stunden nach der letzten Fütterung.

Die Prüfung auf den Übergang des Eiweifses wurde ganz analog den Kasein-Versuchen vorgenommen.

Resultat: Keine Spur von Eiweifsübergang.

II. 10. XII. 1904. Meerschweinchen Dd V, 50 g schwer, 2 Tage alt, bekommt 3,5 ccm Hühnereiweifs. Getötet $3^1/_2$ Stunden nach der letzten Fütterung.

Resultat: völlig negativ.

III. 19. XII. 1904. Meerschweinchen Ll I, 65 g schwer, $1^1/_2$ Tage alt, bekommt am 19. und 20. XII. zusammen 10 ccm Eiweifs.[2]) Entblutet $^1/_2$ Tag nach der letzten Fütterung.

Resultat: völlig negativ.

IV. V. 19 XII. 1904. Meerschweinchen Ll II und Ll III, 60 und 70 g schwer, vom selben Wurf wie das vorige, genau ebenso behandelt. Bei beiden ist das Resultat: völlig negativ.

VI. 19. XII. 1904. Meerschweinchen Kk I. 80 g schwer, 5 Tage alt, genau (und gleichzeitig) behandelt wie die vorigen drei Tiere.

Resultat: völlig negativ.

VII. 22. XII. 1904. Meerschweinchen Nn I, 75 g schwer, 24 Stunden alt, bekommt am 22. und 23. XII. insgesamt 10 ccm Hühnereiweifs per os. Getötet $5^1/_2$ Stunden nach der letzten Fütterung.

Resultat: völlig negativ.

---

1) Das eine vorbehandelte Kaninchen nahm von der 4. Woche an rasch an Gewicht ab. In der 7. Woche vermochte es nicht mehr zu schlucken, trotzdem ee zu fressen versuchte. Es wurde getötet und dabei fand sich der Magen von wässeriger Flüssigkeit erfüllt, ohne Futter, die Schleimhaut desselben samtartig, teilweise gerötet, der Pylorus stark kontrahiert. Im Ösophagus kein Tumor. Starke Perisplenitis und schwächere Perihepatitis. Sonst aufser einigen parasitären Herden in der Leber nichts Pathologisches. Ich erwähne diesen Befund hier eingehender wegen seiner klinischen Übereinstimmung mit manchen Ösophagus-Carcinomen beim Menschen, und kann hinzufügen, dafs unter dieser Erscheinung des Nichtmehrfressenkönnens öfters Kaninchen sterben, die zur Herstellung von Immunseris verwendet werden.

2) Wenn der Einfachheit halber in diesem Kapitel öfter Eiweifs gesagt wird, so ist natürlich Hühnereier-Eiweifs darunter zu verstehen.

VIII. 22. XII. 1904. Meerschweinchen Nn II, 65 g schwer, 24 Stunden alt, genau so behandelt wie das vorige.

Resultat; völlig negativ.

IX. 22. XII. 1904. Meerschweinchen Nn III, 55 g schwer, vom gleichen Wurf wie die zwei vorigen, gleichzeitig und ebenso behandelt.

Das Resultat in diesem Falle war ein schwach positives[1]): Sowohl das unverdünnte Serum wie mit physiologischer Kochsalzlösung angelegte Verdünnungen ergaben mit dem Antiserum Niederschläge, die am zweiten Tag noch etwas umfangreicher waren wie am ersten Tag. Um eine — natürlich nur ganz approximative — Bestimmung der ausgefällten Präzipitatsmenge geben zu können, möchte ich bemerken, dafs ich mir bei der Titration des Anti-Hühnereiweifsserums eine Skala aufgezeichnet hatte.

Damals war 1 ccm der Hühnereiweifs-Verdünnungen (von 1 : 100 bis 1 : 30 000) mit je 5 Tropfeu des Antiserums versetzt worden. Die Reaktionen wurden in annähernd gleich grofsen spitz zulaufenden Zentrifugiergläschen vorgenommen, und am Ende des Versuchs wurden die in den Spitzen befindlichen Präzipitatsmengen abgezeichnet, die entsprechend der Konzentration der benutzten Eiweifslösung kontinuierlich abfielen. So ergab sich jetzt ein ungefährer Mafsstab für die aus dem Serum der gefütterten Tiere niedergeschlagene Eiweifsmenge.

Die bei Benutzung von 0,35 ccm des unverdüuteu Serums vom Jungen Nn III durch 5 Tropfen Antiserum erhaltene Präzipitatsmenge entsprach ungefähr derjenigen, welche sich bei obiger Versuchsanordnung bei einer Eiweifsverdünnung 1 : 4000 bis 1 : 6000 gebildet hatte — nehmen wir also rund 1 : 5000. Es würde danu aus 1 ccm des Serums vom Jungen Nn III ungefähr so viel niedergeschlagen worden sein wie aus einer Eiweifslösung 1 : 1700; mit andern Worten 1 ccm dieses Serum hätte etwa $^1/_{1700}$ ccm Hühnereiweifs enthalten. Das ganze Tier — 55 g schwer — hat rund 2,1 ccm Blutserum, demnach würdeu in dem gesamten Blut des mit 10 ccm Eiweifs gefütterten Tieres ruud etwa $^1/_{800}$ ccm

1) Das Aussehen des flockigen Niederschlages war auch mikroskopisch ein charakteristisches.

davon nachweisbar gewesen sein, was also dem 8000. Teil des Verfütterten entspräche.

X. 22. XII. 1904. Meerschweinchen Nn IV, 57 g schwer, vom gleichen Wnrf wie das vorige, in gleicher Weise behandelt.

Das Resultat der Blutuntersuchung war wiederum ein schwach positives. Am ersten Tag geringer, am zweiten etwas deutlicherer Ausfall eines charakteristischen Präzipitates.

Nach der Menge desselben und der eben erläuterten Art der Berechnung würde etwa $^1/_{10000}$ des verfütterten Eiweifses ins Blut übergegangen sein.

XI. 22. XII. 1904 Meerschweinchen Nn V, 62 g schwer, vom gleichen Wnrf wie die vorigen, in gleicher Weise behandelt:

Auch hier war das Resultat ein schwach positives. Am zweiten Tag erschien ein leichter Präzipitat-Niederschlag, der höchstens dem Übergang des 10000. Teiles der verfütterten Eiweifsmenge ins gesamte Blut entsprach.[1])

XII. Nnn habe ich wie bei den Verfütterungen der bereits abgehandelten genninen Eiweifse anch beim Eiereiweifs einen prolongierten Versuch mit grofsen Mengen vorgenommen.

10. XII. 1904. Meerschweinchen Dd IV, 55 g schwer, 2 Tage alt, erhält vom 10. bis inkl. 17. XII. insgesamt 55 ccm Eiereiweifs, also eine Menge, die seinem anfänglichen Körpergewicht entspricht, per os mit Ballpipette verfüttert. Es nimmt dabei rapid an Gewicht zu[2]), hat am 15. XII. schon 75 g, am 18. XII. 85 g, am 20. XII. 100 g und am 22. XII. 112 g. An diesem Tage wird es durch Halsschnitt entblutet.

Die auf Vorhandensein von Eiweifs im Blute vorgenommene Präzipitinreaktion ergab negativen Befund, es war ja 5 Tage nach der letzten Verfütterung auf keinen Fall mehr Anwesenheit von Eiereiweifs im Blute zu erwarten, dagegen hätte etwa aufgenommenes Eiweifs Zeit genug gehabt, um ein Antiserum zu bilden; ich darf hier auf das bei dem Kasein-Versuch Gesagte hinweisen.

---

1) Im Urin dieser drei Tiere Nn III—V (es standen mir allerdings nur wenige Tropfen zur Verfügung) konnte ich Eiereiweifs mittels der Präzipitin-Reaktion nicht nachweisen.

2) Schon dieser klinische Befnnd legte es nahe, ein negatives Resultat des Versuches zu erwarten. Wir wissen, dafs die Aufnahme von unverändertem Eiweifs ins Blut meist zu Erkrankung, immer zu Abmagerung, oft zum Tode führt (siehe Ganghofner nnd Langer) nnd aus diesem Grunde schon konnte die stetige Gewichtszunahme während der Daner des ganzen Experimentes auf ein völlig normales Verhalten des Magendarmkanales in jeglicher Beziehung schliefsen lassen.

Der Versuch wurde so vorgenommen, dafs zu Eiereiweifslösungen von 1 : 10 an aufwärts bis 1 : 1000 das Serum des Jungen Dd IV zu gleichen Teilen zugesetzt wurde (je 3 Tropfen[1]). Das Ergebnis war ein völlig negatives — das Serum enthielt keinen Hühnereiweifs-Antikörper.

Unsere Versuche haben also ergeben, dafs in der gröfseren Mehrzahl der Fälle beim neugeborenen Meerschweinchen verfüttertes Eiereiweifs die Magendarmwand nicht unverändert passiert. Nur in dreien von zwölf Fällen liefsen sich ganz geringe Mengen ins Blut übergetretenen Eierklars nachweisen. Wie gerade diese Ausnahmen zu erklären sind, weifs ich nicht. Ich möchte aber darauf aufmerksam machen, dafs diese 3 Tierchen alle von einem Wurfe stammten. Man könnte also an eine gewisse hereditäre Schwäche ihres Intestinaltraktes denken, und die Tatsache, dafs es gerade die leichtesten Tiere des Wurfes waren, läfst wirklich diesen Gedanken (der, wie ich wohl weifs, eine Umschreibung, noch keine Erkläruug bedeutet) einigermafsen plausibel erscheinen. Die Mengen, welche die Tierchen verfüttert bekamen, waren aufserordentliche, innerhalb $26\frac{1}{2}$ Stunden 10 ccm, also ungefähr der sechste Teil ihres Körpergewichtes, so dafs man mit gröfserer Wahrscheinlichkeit annehmen kann, dafs hier eben eingetreten ist, was Uhlenhuth, Ascoli und die anderen auch bei ihren erwachsenen Tieren erlebt haben, dafs nämlich die plötzliche Überschwemmung des Magendarmkanales mit den fremden Eiweifsstoffen es für den Augenblick nicht zu entsprechend grofser Verdauungssaft-Absonderung kommen liefs, und so noch Spuren unveränderten Eiweifses ins Blut abgeführt werden konnten.

Es mufs wirklich wundernehmen, dafs nicht auch bei den übrigen mit so grofsen Eiereiweifsmengen gefütterten Tieren ein Übertritt im Blut erfolgt ist, speziell dafs sich bei dem zuletzt berichteten Versuch kein Antiserum gebildet hat, zumal wenn wir uns an die schon oben erwähnten Versuche von Hamburger und Sperk erinnern, die nach Injektion von geringen,

1) Auch hier wurden, wie stets, ganz entsprechende Kontrollversuche mit Immunserum gleichzeitig vorgenommen.

biologisch im Blut gar nicht nachweisbaren, Eiklarmengen ein ausgezeichnetes Antiserum gewannen.

Über die Divergenz der Ganghofner-Langerschen Resultate einer-, der Hamburger-Sperkschen und der uusrigen anderseits wird an späterer Stelle zu sprechen sein, hier gehe ich auf dieselben nur ein, soweit sich Differenzen in den Versuchen am menschlichen Säugling ergeben haben.

Den vier negativen Versuchen von Hamburger-Sperk stehen zwei positive von Ganghofner-Langer gegenüber. Von diesen zwei Versuchen ist der eine, wobei reichlicher Übergang von Eiweifs ins Blut vermerkt wurde, an einem offenbar nicht lebensfähigen Kiude vorgenommen (1 Tag altes Kind, Zwillingsfrucht, Gewicht 2100 g, Enkephalokele, erhielt am 31. V. und 1. VI. bis abends 8 Uhr Hühnereifsweilösungen, starb am gleichen Abend 10½ Uhr. Blut 10 Stunden nach dem Tode entnommen). Die eben zitierten Data gestatten mir wohl ohne detailliertes Eingehen auf diesen Fall, auszusprechen, dafs er für die Frage des Eiweifs-Überganges bei normalen Kindern nicht verwertbar ist.

Der zweite Fall war ein 3 Wochen altes Kind, das wegen Lymphangioma colli operiert wurde. Auch hier fand sich Übergang des per os gegebenen Eiweifses ins Blut. Zu dieser Beobachtung möchte ich bemerken, dafs über den Zustand des Magendarmkanales nichts angegeben ist, und dafs der positive Ausfall bei einem gesunden 3 Wochen alten Kinde ja für den menschlichen Säugling eine Durchlässigkeit des Intestinaltraktes beweisen würde, die weit über das von Behring Behauptete hinausginge und eine zeitlich bedeutend länger dauernde wäre als bei allen geprüften Tierarten. Aus diesem Grunde, glaube ich, kann der eine positive Fall dem andereu negativen gegenüber nicht allzu schwer ins Gewicht fallen.

## Versuche mit Antitoxinen.

Wie bereits erwähnt, waren es Experimente seines Mitarbeiters Römer gewesen, welche Behring zur Angabe führten, dafs genuine Eiweifskörper die Intestinalschleimhaut neugeborener Tiere

ebenso unverändert durchdringen, als ob sie direkt in die Blutbahn hineingebracht würden.

Römer ging aus von einem durch Ransom mitgeteilten Fall, wo ein lange mit Tetanus-Antitoxin vorbehandeltes Pferd ein Fohlen warf, welches bei der Geburt $2^1/_2$ A. E. pro 1 ccm Blutserum aufwies. Die Milch des Mutterpferdes enthielt gleichfalls Antitoxin. Im weiteren Verlaufe der Beobachtung sank dann der Antitoxingehalt im Blutserum und in der Milch der Mutter ebenso, wie im Blutserum des Fohlens. Römer meinte nun mit Behring, dafs nur »unter Umständen« durch Vermittelung der Plazentargefäfse Antitoxin auf den Fötus übergehen könne[1]) und glaubte diese Ausnahme so erklären zu können, dafs im Ransomschen Falle unter dem Einflufs der Tetanusgift-Wirkung Hämorrhagien in der Plazenta entstanden seien, die vorübergehend eine Kommunikation von mütterlichem und fötalem Blut hergestellt hatten. Aus diesem Grunde vermied Römer bei seinem Pferd mit Eintritt der Gravidität jede Giftbehandlung.

Er immunisierte eine Stute während der Schwangerschaft gegen Diphtherie und fand das Fohlenblut am Tage der Geburt ohne Antitoxin; nachdem das Junge von der Stute 4 Tage gesäugt worden war, enthielt sein Blutserum pro 1 ccm bereits $^1/_{10}$ A. E. Der Antitoxingehalt stieg rapid weiter an, bis am 12. Tage nach der Geburt ein Höhepunkt mit 5 A. E. pro ccm Blutserum erreicht war.

Ein ähnliches Resultat wurde mit einem trächtigen Kaninchen erzielt, welches mit Tetanus-Antitoxin behandelt worden war. Es warf fünf Junge. Zwei von ihnen wurden sofort entblutet — ihr Serum war frei von Antitoxin. Das eines dritten Jungen enthielt schon am 4. Tage $^1/_{3000}$ A. E.

1) Ich gehe auf diese Versuche, die nicht strikt zum Thema »Durchgängigkeit des Magendarmkanales« gehören, zum Teil darum ein, weil auch ich einige einschlägige Experimente vorgenommen habe, in der Hauptsache aber deswegen, weil aus den inzwischen fortgesetzten Versuchen Römers, den Arbeiten von Polano usw. sich eine Regel über die Durchgängigkeit der Placentarwand ableiten liefs, welche grundsätzliche Differenzen bei den verschiedenen Tierspezies feststellte. Dieser Regel wird eine zweite an die Seite zu setzen sein, welche bezüglich der Durchlässigkeit des Magendarmkanales bei den verschiedenen Arten sich aus meinen Versuchen ergeben hat.

Aus der weiteren Schilderung des Fohlenversuches geht hervor, dafs vom Anfang der dritten Woche an eine Verminderung des Antitoxingehaltes im Fohlenblute eintrat. Diese Abnahme könnte nach Römer aus dem — ebenfalls nachgewiesenen — Rückgang des Antitoxingehaltes der Muttermilch allein erklärt werden, zumal wenn die Gewichtszunahme des Tieres in Betracht gezogen wird. Jedoch das auffallende Sinken des Antitoxingehaltes liefs doch daran denken, ob nicht im Darmkanal des Fohlens sich Veränderungen eingestellt hätten, die eine weitere Aufnahme des Antitoxins in das Blut verhinderten.

An dieser Stelle erwähnt Römer die gescheiterten Versuche, die menschliche Diphtherie durch intestinale Verabreichung von Heilserum zu bekämpfen als Beweis, dafs bei älteren Individuen eine Resorption von Antitoxin im Intestinaltrakt nicht stattfindet. Er stellte nun selber vier einschlägige Experimente an.

Ein Pferd wurde mit Diphtherie-Antitoxin gefüttert, indem es in fünf hintereinanderfolgenden Tagen zusammen 42500 A. E. erhielt, — sein Blut blieb antitoxinfrei. Das gleiche Resultat wurde erzielt an einem Schaf, welches an 9 Tagen je 1300 A. E. erhielt. Auch bei dem oben erwähnten Fohlen trat, trotzdem es zu Anfang seiner vierten Lebenswoche an vier Tagen je 2,5—5 g Diphtherie-Heilserum Nr. IV. erhielt, in dieser Zeit eine weitere Abnahme des Antitoxingehaltes des Blutserums ein. Schliefslich zeigte noch ein Kaninchen, welches mit 20 ccm antitoxischer Pferdemilch (ca. vierfach normal) gefüttert wurde, nicht die geringste Antitoxin-Resorption. Drei Versuche, die vorgenommen wurden zur Entscheidung der Frage, ob mit einer intestinalen Antitoxin-Denaturierung in nennenswertem Grade zu rechnen sei, reichten zur Entscheidung dieser Frage nach Römers eigener Ansicht nicht aus. Polano hat 1904 in seiner Würzburger Habilitationsschrift die Römerschen Versuche des intrauterinen Übergangs der Antitoxine wieder aufgenommen und zwar am Menschen. Ein erster Versuch mit Diphtherie-Antitoxin mifslang — es war aus unbekannten Gründen nicht einmal im mütterlichen Blute Antitoxin nachweisbar.

Polano ging dann zum Tetanus-Antitoxin über und erhielt da bei seinen zwei ersten Versuchen kaum brauchbare Resultate, in einem dritten Versuch, wo er einer Primigravida 2 Wochen und dann einen Tag vor der Geburt je 100 A. E. v. Behringschen Heilserums eingespritzt hatte, konnte er aber einwandfrei den Übergang von Antitoxin von der Mutter auf das Kind nachweisen.

So war der Stand der Antitoxinfrage, als ich meine Versuche begann.

Es war mir darum zu tun, möglichst geringe Mengen etwa übergehenden Antitoxins im Blut der Jungen nachweisen zu können. Beim Tetanus-Antitoxin war dies mit den bisherigen Methoden gut durchzuführen, für das Diphtherie-Antitoxin jedoch reichten dieselben nicht aus; denn die geringste mit ihrer Hilfe feststellbare Antitoxinmenge waren ungefähr 0,1 Immunisierungs-Einheiten. Ich begrüfste deshalb mit grofser Freude die Marxsche Veröffentlichung, die mir die notwendigen Hilfsmittel für so feine Antitoxinbestimmungen in die Hand gab.

Die neue Methode beruht darauf, dafs zur Titration der gesuchten Antitoxinmenge nicht mehr eine vielfach tödliche Toxindosis neutralisiert zu werden braucht, sondern dafs eine einzige Komponente der Diphtheriegiftwirkung, nämlich die Verursachung eines lokalen Ödems, als Indikator benutzt werden kann.

Da irgend eine Bestätigung der auf den 11. internationalen Kongrefs für Hygiene und Demographie zu Brüssel und dann im Centralblatt für Bakteriologie nochmals kurz beschriebenen Marxschen Befunde bis dahin nicht bekannt geworden war, unternahm ich es zunächst, die Methode nachzuprüfen.

Durch die Liebenswürdigkeit des Herrn Prof. Paltauf stand mir ein flüssiges, im Kaiserl. Königl. Seruminstitut zu Wien genau austitriertes Gift zur Verfügung. Seine Dosis letalis für Meerschweinchen von 250 g war 0,02, der L + Wert 0,45.

Die Nachprüfung ergab ein mit dem Berichteten übereinstimmendes Resultat.

Eine Anzahl von Versuchen ergab nun, dafs $^1/_{10}$ der absolut tödlichen Dosis beim Meerschweinchen von 250 g unter die Haut eingespritzt, nach zweimal 24 Stunden noch ein sehr starkes Ödem[1]) mit vielen Hämorrhagien bewirkte, während beispielsweise $^1/_{15}$ tödlicher Dosis nur »ziemlich« starkes Ödem vernrsachte. Im allgemeinen ergab die Obduktion dieser Ödemtiere keine irgendwie erhebliche Giftwirkung auf innere Organe, da ich aber doch bei einigen Sektionen solche in geringerem Grade konstatieren konnte, sah ich bei sämtlichen Serumbestimmungen davon ab, nach Marx'ens Vorschlag ein Tier an zwei entgegengesetzten Körperstellen mit zwei verschiedenen zu prüfenden Flüssigkeiten zu injizieren und habe stets nur eine einzige subkutane Einspritzung unter die Bauchhaut vorgenommen. Ich mufs auch offen gestehen, dafs ich es mir gar nicht vorstellen kann, dafs die injizierte nicht tödliche Giftdosis, abgesehen von ihrer heftigen lokalen Wirkung, den übrigen Körper unangetastet lassen könnte. Um deshalb nicht vorauszusehenden und unberechenbaren Fehlern zum Opfer zu fallen, wird es sich auch künftig für jeden, der die Marxsche Methodik anwendet, empfehlen, an einem und demselben Tier nur eine Flüssigkeit zu prüfen.

Ich liefs nun auf die Giftmenge, welche das »sehr starke Ödem« verursachte, Verdünnungen eines 200-fachen, ebenfalls von Herrn Prof. Paltauf gütigst zur Verfügung gestellten Diphtherie-Antitoxins in Abstufungen 24 Stunden lang[2]) einwirken und stellte durch Meerschweinchen-Versuche fest, dafs bei $^1/_{800}$ J. E. noch ein sehr starkes Ödem unverändert sich zeigte, während bei

$^1/_{600}$ J. E. ein ziemlich starkes Ödem,
$^1/_{500}$ J. E. mäfsiges Ödem,
$^1/_{400}$ J. E. sehr geringes Ödem,
$^1/_{300}$ J. E. eben noch nachweisbare Spur von Ödem

1) Ich zog es vor, bei meinen Versuchen diese noch sehr starke Ödemansammlung zum Ausgangspunkt der Titration zu nehmen, während Salge eine Giftdosis benntzte, welche »eben noch ein deutliches Ödem« erregte.

2) Wie Marx es vorschlug, 2 Stunden lang im Brutschrank, dann 22 Stunden im Eisschrank.

sich fand, so dafs also $^1/_{200}$ J. E. die Menge war, welche die ödemmachende Wirkung von $^1/_{10}$ tödlicher Dosis aufhob, während $^1/_{500}$ J. E. keinen giftwirkungshemmenden Einflufs mehr ausübte. Durch ein solches Austitrieren läfst sich also tatsächlich, auch wenn der »Glattwert« noch nicht erreicht ist, empirisch ungefähr bestimmen, wie viel Immunisierungseinheiten eine zu untersuchende Flüssigkeit enthält. Die Methodik ist — wie oft wiederholte Versuche mir zeigten — eine ungemein genaue und verlässige, und rein theoretische Einwände, wie sie von Siegert gegen dieselbe erhoben worden sind, entbehren jeglicher Begründung.

Zur Injektion verwandte ich stets 0,6 ccm Gesamtflüssigkeit; dies Volum wurde nur ausnahmsweise dann überschritten, wenn ein Serum in der Menge von 0,4 ccm noch nicht zur Bestimmung genügende antitoxische Wirkung gezeigt hatte. Mehr als 0,8 ccm Gesamtvolum habe ich aber nie eingespritzt.

Zunächst prüfte ich das Blutserum neugeborener und wenige Tage alter unbehandelter Meerschweinchen verschiedener Würfe (3 Geschwister ε, 2 Geschwister W) auf etwaigen angeborenen Diphtherie-Antitoxingehalt. Es fand sich regelmäfsig das Blut ganz frei von Antitoxin. (Auf die Wiedergabe der betreffenden Protokolle kann ich deshalb verzichten).

Nun versuchte ich den von Römer geleugneten plazentaren Übergang des Antitoxins von der Mutter auf das Junge festzustellen.

21. IV. 1904. Meerschweinchen I, nie behandelt, ca. 600 g Gewicht, hochschwanger. Die Geburt ist in den nächsten Tagen zu erwarten.

Vormittags 11 Uhr wird ihm vom Höchster Diphtherie-Heilserum VI D Op. 880 C. Nr. 706 .... 6 ccm subkutan unter die Bauchhaut injiziert (500fach = 3000 J. E.).

23 IV. Bis heute (Samstag) Abend ist die Geburt noch nicht eingetreten. Da bereits Schwellung der Vulva vorhanden ist, also wahrscheinlich die Geburt sehr bald erfolgen würde, wird der Kaiserschnitt vorgenommen, um zu vermeiden, dafs die nachts oder Sonntags geborenen Jungen an der Alten (die ja sicher antitoxinhaltige Milch hat) saugen können.

Kaiserschnitt abends 6 Uhr, also 2 Tage und 7 Stunden nach Injektion des Heilserums. Sofortige Entblutung der drei Jungen (L I—III) durch Halsschnitt.

Gleichzeitige Entblutung der Alten.

Für die Bestimmung der im Blute der Alten befindlichen Antitoxinmenge benutzte ich die alte Ehrlich-Kossel-Wassermannsche Gift-Serum-Mischungsmethode (10-fache Menge der tödlichen minimalen Giftdosis + zu untersuchendes Serum in abgestuften Mengen; nach der Mischung erst 2 Stunden Brutschrank, dann 2½ Stunden Eisschrank):

| | 0,2 ccm Diphtheriegift Paltauf = 10fach tödl. Dosis vermischt mit | Versuchstier | Verlauf des Versuchs |
|---|---|---|---|
| 23. VI. 04. | 0,1 ccm Serum Alte L | Meerschw. 10, Gew. 290 g. | 24. ganz munter, ohne Ödem. |
| | | | 25. kein Ödem. Gew. 300 g. Nachm. 310 g. |
| | | | 27. Gew. 320 g } Tier blieb völlig gesund. |
| | | | 30. Gew. 330 g } |
| | 0,03 ccm Serum Alte L | Meerschw. 11, Gew. 290 g. | 24. ganz munter, ohne Ödem. |
| | | | 25. kein Ödem. Gew. 300 g. Nachm. Gew. 310 g. |
| | | | 27. Gew. 320 g } Tier blieb völlig gesund. |
| | | | 30. Gew. 340 g } |
| | 0,02 ccm Serum Alte L | Meerschw. 12, Gew. 260 g. | 24. reichl. Ödem, geringe Motilität. |
| | | | 25. Morgens tot aufgefunden. Gew. 240 g. Obdukt. Typischer Diphtheriegiftbefund. |
| | 0,01 ccm Serum Alte L | Meerschw. 13, Gew. 260 g. | 24. Ausgedehntes Ödem. Tier schwer krank. |
| | | | 25. Morgens tot aufgefunden. Gew. 240 g. Obdukt. Typ. Diphtheriegiftbefund. |
| | 0,005 ccm Serum Alte L | Meerschw. 14, Gew. 255 g. | Verlauf genau wie bei Meerschw. 13. |

Zur genaueren Bestimmung setzte ich diesen Versuch weiter fort und fand:

| | 0,2 ccm Diphtheriegift Paltauf = 10fach tödl. Dosis vermischt mit | Versuchstier | Verlauf des Versuchs |
|---|---|---|---|
| 16. VII. 04. | 0,03 ccm Serum Alte L | Meerschw. 27, Gew. 250 g. | 17. Gew. 245 g.<br>18. Gew. 250 g. Fraglich, ob Spur Ödem. Tier sehr mobil.<br>19. Gew. 255 g. Kein Ödem. Tier sehr mobil. Von hier ab ständige Zunahme. |
| | 0,0275 ccm Serum Alte L | Meerschw. 28, Gew. 240 g. | 17. Gew. 230 g.<br>18. Gew. 235 g. Ganz leichtes Ödem.<br>19. Gew. 240 g. Sehr mobil, kein Ödem mehr. Von hier ab ständige Zunahme. |
| | 0,025 ccm Serum Alte L | Meerschw. 29, Gew. 245 g. | 17. Gew. 240 g.<br>18. Gew. 235 g. Mäfsiges Ödem. Mobil.<br>19. Gew. 245 g. Von da ab schnelle Abnahme des Ödems und ständige Zunahme an Gewicht. |
| | 0,0225 ccm Serum Alte L | Meerschw. 30, Gew. 250 g. | 17. Gew. 235 g.<br>18. Gew. 225 g. Sehr starkes Ödem. Mobilität beeinträchtigt.<br>19. Tier tot aufgefunden. Gew. 200 g. Obdukt.: Typ. Di-Giftbefund. |

Darnach war etwa 0,03 ccm Serum der Alten die Dosis der glatten Resorption oder es schützte 0,03 des Serums vor 0,2 ccm Diphtheriegift Paltauf; da das zur Prüfung benutzte Gift aber $^1/_2$ normal war (Dosis letalis für Meerschweinchen von 250 g . . . 0,02 oder nach v. Behrings Ausdrucksweise:

1 ccm = + 12 500 M), hätte

0,03 des Serums der Alten vor 0,1 ccm Normalgift geschützt,

somit 0,3 ccm des Serums vor 1,0 ccm Normalgift. Nun bezeichnet man als Antitoxin- oder Immunisierungseinheit[1]) diejenige Menge von Antitoxin, welche gerade ausreicht, um eine Toxin-Einheit (= 1 ccm Normalgift) zu neutralisieren; somit erwies sich das Serum der Alten über 3-fach normal, d. h. es enthielt in 1 ccm mehr als 3 J. E. Antitoxin. Berechnen wir dies auf die Gesamtserummenge (= $^1/_{26}$ des Körpergewichts, hier also rund = 23 ccm), so stellt sich heraus, dafs im Serum der Alten noch ungefähr 75 J. E. des eingespritzten Antitoxins nachweisbar waren.

Die Prüfung des vermischten Serums der 3 Jungen L I—III nach der Marxschen Methode ergab[2])

| $^1/_{10}$ tödliche Giftdosis vermischt mit | Versuchstier | Befund bei der Tötung nach 2 × 24 Stunden |
|---|---|---|
| 1. 0,2 ccm Serum Junge L I—III | Meerschw. 15; Gew. 290 g. | Gew. 300 g, geringes Ödem, etwas vermehrte Peritonealflüfsigkeit. |
| 2. 0,3 ccm Serum Junge L I—III | Meerschw. 26; Gew. 230 g. | Gew. 180 g, sehr starkes Ödem. |
| 3. 0,4 ccm Serum Junge L I—III | Meerschw. 16; Gew. 300 g. | Gew. 320 g, Spur Ödem. |
| 4. 0,6 ccm Serum Junge L I—III | Meerschw. 24; Gew. 250 g. | Gew. 230 g, völlig glatt. |

(Wir sehen hier wieder die Genauigkeit der mefsbaren Abstufungen; die etwas stärkere Affektion des zweiten Tieres wird durch sein im Verhältnis zu den anderen geringes Gewicht erklärt.)

Somit zeigte sich bei 0,6 ccm Serum der Jungen glatte Resorption. Dies entspricht nach den mit dem Paltaufschen Antitoxin gefundenen Resultaten etwa $^1/_{200}$ J. E.

1) Ich folge hier den Angaben des in Buchform vorliegenden Berichtes der Farbwerke Meister Lucius und Brüning (1903). In anderen Büchern (z. B. bei Diendonné) wird man andere Angaben finden.

2) Ich brauche wohl kaum hervorzuheben, dafs die einzelnen Prüfungen stets durch Injektionen der $^1/_{10}$ tödlichen Dosis ohne Zusatz bei einem Meerschweinchen kontrolliert wurden.

Wenn in 0,6 ccm also $^1/_{200}$ J. E. nachweisbar waren, so enthielt 1 ccm dieses Serums etwa $^1/_{120}$ J. E. oder das Gesamtblut eines solchen Tieres etwa $^1/_{50}$ J. E. Diphtherie-Antitoxin.

Dieser Versuch bildete für das Meerschweinchen eine Bestätigung dessen, was Polano beim Menschen bezüglich des Tetanus-Antitoxins gefunden hatte, nämlich plazentaren Übergang des Antitoxins von der Mutter auf das Junge auch bei antitoxischer Immunisierung.

Nach dieser Feststellung war ich begierig zu sehen, ob etwa die Jungen eines Tieres, das vor einiger Zeit eine starke Diphtheriegiftdosis erhalten hatte, aber überlebend geblieben war, in ihrem Blute Antitoxin hätten.

2 Junge des auf solche Weise behandelten Meerschweinchens ♀ wurden am Tage der Geburt entblutet.

Es zeigte sich nicht der geringste Antitoxingehalt im Blute der Jungen. Dies stimmt überein mit der Erfahrung, dafs Meerschweinchen sich aktiv gegen Diphtherie kaum immunisieren lassen.

Nun ging ich daran, den Übergang des Antitoxins im Blute vom Darmkanal aus zu prüfen.

I. Meerschweinchen v I und v II, vom Tag der Geburt ab mit Diphtherie-Antitoxin mittels Ballpipette gefüttert. Gewicht (erst am 3. Lebenstag notiert: 90 und 100 g).

Vom 18. VI. bis 21. VI. 1904 bekamen sie zusammen 18,75 ccm eines 400fachen Höchster Serums = 7500 J. E., also rund 40 J. E. pro Gramm Körpergewicht.

Am 22. VI. vormittags werden sie beide in gemeinsames Gefäfs entblutet.

| $^1/_{10}$ tödl. Giftdosis vermischt mit | Versuchstier | Befund bei der Tötung nach $2 \times 24$ Stunden |
|---|---|---|
| 0,1 ccm Serum Junges v I u. II | Meerschw. 23; Gew. 250 g. | Gew. 200 g; mäfsig starkes Ödem, mäfsig Hämorrhagien. |
| 0,2 ccm Serum Junges v I u. II | Meerschw. 37; Gew. 260 g. | Gew. 260 g; wenig Ödem mit geringen Hämorrhagien. |
| 0,3 ccm Serum Junges v I u. II | Meerschw. 38; Gew. 250 g. | Gew. 250 g; sehr geringes Ödem. |
| 0,4 ccm Serum Junges v I u. II | Meerschw. 18; Gew. 240 g. | Gew. 240 g; glatt. |

Resultat: 0,4 ccm ergaben glatte Resorption, d. h. sie hatten die Wirkung von $^1/_{200}$ J. E. oder: 1 ccm des Serums der beiden Tiere v I und II enthielt ungefähr $^1/_{80}$ J. E. Diphtherie-Antitoxin, mit anderen Worten: ins Gesamtblut der beiden Tierchen war durch die Fütterung rund $^1/_{10}$ J. E. Antitoxin übergegangen.

II. 22. VII. 1904. Junges Meerschweinchen H VII, 40 g schwer, erhält am Tag der Gehurt und am folgenden zusammen 1,8 ccm Höchster Diphtherie-Heilserum (400fach = 720 J. E.) mittels Ballpipette verfüttert. Es kommen also auf 1 g Körpergewicht 18 J. E.

Leichte Aspiration bei der Verfütterung. Entblutung 6 Stunden nach der letzten Fütterung

Die erhaltenen 0,4 ccm Serum werden zu einer einzigen Prüfung verwendet:

| Versuchstier | Befund bei der Tötung nach 2×24 Stunden |
|---|---|
| Meerschw. 47; Gew. 250 g | Gew. 280 g. Völlig glatte Resorption. |

Resultat: Deutlicher Übergang von Antitoxin ins Blut; da nur der eine Versuch gemacht werden konnte, läfst sich der Antitoxingehalt des Serums nicht genau feststellen, es enthielt aber mindestens 1 ccm Serum des Jungen H VII .... $^1/_{80}$ J. E. Diphtherie-Antitoxin; der Mindestgehalt seines Gesamtblutes war demnach ungefähr $^1/_{50}$ J. E.

III. 25. VII. 1904. Junges Meerschweinchen 3 II, 80 g schwer, erhält am Tage der Gehurt per os 2,88 ccm Höchster Diphtherie Heilserum (500fach = 1440 J. E.), also auf das Gramm Körpergewicht gerechnet 18 J. E.

Am folgenden Morgen durch Halsschnitt enthlutet.

Die Prüfung ergab:

| $^1/_{10}$ tötl. Giftdosis vermischt mit | Versuchstier | Befund bei der Tötung nach 2 × 24 Stunden |
|---|---|---|
| 0,1 ccm Serum 3 II | Meerschw. 48; Gew. 250 g | Gew. 245 g; völlig glatte Resorption |
| 0,2 ccm Serum 3 II | Meerschw. 49; Gew. 240 g | Gew. 245 g; völlig glatte Resorption |
| 0,4 ccm Serum 3 II | Meerschw. 50; Gew. 230 g | Gew. 235 g; völlig glatte Resorption |

Resultat: Schon 0,1 ccm Serums verursachte völlig glatte Resorption der $^1/_{10}$ tödlichen Giftdosis, enthielt also zum mindesten $^1/_{200}$ J. E. oder 1 ccm des Serums vom Jungen 3 II enthielt zum wenigsten $^1/_{20}$ J. E. Diphtherie-Antitoxin, das Gesamtserum des Tieres also zum wenigsten $^1/_7$ J. E.

IV. 25 VII 1904. Junges Meerschweinchen 4 I, 60 g schwer, erhält am Tage der Geburt per os

2,1 ccm Höchster Diphtherie-Heilserum 400fach = 840 J. E.
0,48 „ „ „ „ 500fach = 240 J. E.

zusammen 1080 J. E.,

entsprechend 18 J. E. pro Gramm des Körpergewichts.

Entblutung am folgenden Morgen. Die Prüfung nach Marx ergab:

| $^1/_{10}$ tödl. Giftdosis vermischt mit | Versuchstier | Befund bei der Tötung nach 2 × 24 Stunden |
|---|---|---|
| 0,4 ccm Serum 4 I | Meerschw. 51; Gew. 250 g | Gew. 265 g; völlig glatte Resorption |

Resultat: Bereits 0,4 ccm des Serums verursachte völlig glatte Resorption, enthielt also zum mindesten $^1/_{200}$ J. E.
Mindestgehalt von 1 ccm Serum des Jungen 4 I . . . $^1/_{80}$ J. E.
Mindestgehalt des Gesamtserums des Jungen 4 I . . . $^1/_{35}$ J. E.

V. 25. VII. 1904. Junges Meerschweinchen 4 II, 60 g schwer, erhält am Tage der Geburt per os 2,16 ccm Höchster Diphtherie-Heilserum (500fach = 1080 J. E.), also wiederum 18 J. E. aufs Gramm Körpergewicht gerechnet.

Entblutung am nächsten Morgen.

Die Prüfung ergab:

| $^1/_{10}$ tödl. Dosis vermischt mit | Versuchstier | Befund bei der Tötung nach 2 × 24 Stunden |
|---|---|---|
| 0,15 ccm Serum 4 II | Meerschw. 52; Gew. 240 g | Gew. 245 g; völlig glatte Resorption |
| 0,3 ccm Serum 4 II | Meerschw. 53; Gew. 230 g | Gew. 225 g; völlig glatte Resorption |

Resultat: Mindestgehalt von 1 ccm Serum des Jungen 4 II $^1/_{30}$ J. E., Mindestgehalt des Gesamtserums des Jungen 4 II $^1/_{13}$ J. E. Diphtherie-Antitoxin.

VI. 26. VII. 1904. Junges Meerschweinchen f III, 85 g schwer, erhält am Tag der Geburt per os 3,06 ccm Höchster Diphtherie-Heilserum (500fach = 1530 J. E), wiederum 18 J. E. auf das Gramm Körpergewicht gerechnet.

Entblutung am folgenden Vormittag.

Die Prüfung ergab:

| $^1/_{10}$ tödl. Giftdosis vermischt mit | Versuchstier | Befund bei der Tötung nach $2 \times 24$ Stunden |
|---|---|---|
| 0,1 ccm Serum f III | Meerschw. 56; Gew. 240 g | Gew. 220 g. Aufserordentlich starkes Ödem mit starken Hämorrhagien. |
| 0,2 ccm Serum f III | Meerschw. 54; Gew. 230 g | Gew. 225 g. Mäfsig starkes Ödem; starke Hämorrhagien. |
| 0,4 ccm Serum f III | Meerschw. 55; Gew. 270 g | Gew. 255 g. Mäfsig starkes Ödem; starke Hämorrhagien. |

Ich bin bei diesem Versuch also nicht bis zur Erzielung des »Glattwertes« gekommen. Doch während 0,1 ccm Serum noch keinerlei Einwirkung auf die Giftdosis zeigt (Befund genau wie bei dem Kontrolltier), läfst sich eine solche bereits bei 0,2 und 0,4 ccm Serum-Zusatz erkennen. Es würde das »mäfsig starke Ödem« etwa entsprechen $^1/_{500}$ J. E. unserer empirischen Tabelle. Ich unterlasse hier eine Ausrechnung auf Grund dieser Zahl. Der Übertritt einer kleinen Menge von Diphtherie-Antitoxin ins Blut ist aber beim Jungen f III sichergestellt.

VII. 26. VII. 1904. Junges Meerschweinchen $\mu$ III, 80 g schwer, erhält am Tag der Geburt per os 2,88 ccm Höchster Diphtherie-Heilserum (500fach = 1440 J. E.), auch wieder aufs Gramm Körpergewicht 18 J. E gerechnet.

Entblutung am folgenden Morgen. Bei der Prüfung ergaben 0,38 ccm des Serums mit $^1/_{10}$ tödlicher Giftdosis zusammengebracht, völlig glatte Resorption nach zweimal 24 Stunden.

Das Resultat ist also auch hier wieder deutlich positiv.

Nachdem sich so als gesetzmäfsige Erscheinung der Übergang eines Teiles des als Heilserum verfütterten Diphtherie-Antitoxins durch den Magendarmkanal der neugeborenen Meerschweinchen ins Blut gezeigt hatte, blieb noch die Frage übrig, ob alte Tiere sich ebenso verhielten. Ich nahm deshalb folgenden Versuch vor:

12. VII. 1904. Muttertier d, Gewicht 570 g, bekommt aus der R. Karotis ca. 3 ccm Blut entzogen.

Darnach Fütterung mit Ballpipette. Vom 12. bis 15. VII. erhält das Tier im ganzen **22 500 J. E.** Diphtherie-Antitoxin in Form von Höchster Heilserum (400 und 500fach) verfüttert.

Es war in diesem Falle also auf jedes Gramm Körpergewicht etwa 40 J. E. gerechnet. Am Nachmittag des 15. VII. wurde dem Tier 8 ccm Blut aus der linken Carotis entnommen.

Die Prüfung des Blutserums dieses alten Tieres vor der Fütterung ergab:

| $^1/_{10}$ tödl. Giftdosis vermischt mit | Versuchstier | Befund bei der Tötung nach 2 × 24 Stunden |
|---|---|---|
| 0,1 ccm Serum d | Meerschw. 36; Gew. 245 g | Gew. 220 g. Sehr starke Ödembildung mit reichl. Hämorrhagien. |
| 0,2 ccm Serum d | Meerschw. 32; Gew. 230 g | Gew. 210 g. Ebenso. |
| 0,4 ccm Serum d | Meerschw. 33; Gew. 230 g | Gew. 210 g. Ebenso. |
| 0,6 ccm Serum d | Meerschw. 35; Gew. 230 g | Gew. 210 g. Ebenso. |

Resultat: Das Serum des Tieres d enthielt vor der Fütterung kein Diphtherie-Antitoxin.

Die Prüfung desselben Serums nach der Fütterung mit dieser riesigen Antitoxin-Dosis ergab:

| $^1/_{10}$ tödl. Giftdosis vermischt mit | Versuchstier | Befund bei der Tötung nach 2 × 24 Stunden |
|---|---|---|
| 0,1 ccm Serum d | Meerschw. 40; Gew. 260 g | Gew. 240 g. Aufserordentl. starkes Ödem mit reichl. Hämorrhagien. |
| 0,2 ccm Serum d | Meerschw. 41; Gew. 260 g | Gew. 255 g. Ebenso. |
| 0,3 ccm Serum d | Meerschw. 42; Gew. 250 g | Gew. 225 g. Ebenso. |
| 0,4 ccm Serum d | Meerschw. 43; Gew. 240 g | Gew. 235 g. Ebenso. |
| 0,5 ccm Serum d | Meerschw. 44; Gew. 250 g | Gew. 235 g. Ebenso. |
| 0,6 ccm Serum d | Meerschw. 45; Gew. 240 g | Gew. 215 g. Ebenso. |

Resultat: Es war nicht die Spur nachweisbaren Antitoxins ins Blut der Alten übergegangen.

Eine Wiederholung dieses Versuches verbot sich durch seine aufserordentliche Kostspieligkeit; er stimmt aber völlig zu all

Digitized by Google

den von Römer erhaltenen Resultaten bei den Alten der verschiedensten Tiergattungen.

Hier ist der Ort, einen Versuch am neugebornen Menschen einzufügen. Ich hätte gern an einer gröfseren Anzahl von Kindern solche Antitoxinfütterungen vorgenommen, allein — da nur durch einen Aderlafs genügende Mengen Blutes erhalten werden konnten — scheute ich mich, zu solchen nicht notwendigen Operationen zu schreiten, und kann deshalb nur über ein einziges Experiment berichten: Das Kind, Wolfgang B., wurde gleich nach der Geburt wegen schwerer inoperabler Spina bifida und Klumpfüfsen in das von Haunersche Kinderspital aufgenommen. Die Verdauung funktionierte — wie die Beobachtung in den ersten Lebenstagen zeigte — gut; ich glaubte, bei diesem Candidatus mortis einen Aderlafs wagen zu dürfen. Als das Kind 3 Tage alt war, entzog ich ihm aus der linken Vena mediana Blut. Dann verfütterte ich auf einmal mittels Magensonde 15000 J. E. Diphtherie-Antitoxin. Am folgenden Tag, nach 15½ Stunden, machte ich eine Blutentziehung aus der Vena mediana.

Die Prüfung des kindlichen Serums nach Marx vor der Fütterung ergab bis 0,05 ccm herunter glatte Resorption. Leider konnte ich nicht mit geringeren Serummengen eine ergänzende Prüfung vornehmen, da zum ersten Versuch alles verbraucht war. Das Serum nach der Fütterung ergab bei den entsprechenden Werten gleichfalls glatte Resorption. So ist also durch dieses Experiment für unsere Frage nichts bewiesen, wohl aber wiederum festgestellt, dafs sich im Serum des nicht gesäugten neugebornen Menschen gröfsere Diphtherie Antitoxinmengen vorfinden können.

Nachdem die Durchlässigkeit des Magendarmkanales neugeborner Meerschweinchen für das Diphtherie-Antitoxin einwandfrei gezeigt war, galt es, das Tetanus-Antitoxin unter gleichen Verhältnissen zu prüfen. Aber über den nun folgenden Untersuchungen schwebte von Anfang an ein böser Stern. Durch die entgegenkommende Liebenswürdigkeit des Herrn Prof. Paltauf verfügte ich über ein festes Tetanustoxin und über ein flüssiges

Antitoxin. In dem von Herrn Dozenten Dr. Kraus, dem ich für seine Bemühungen den herzlichsten Dank ausspreche, gezeichneten Begleitschreiben zur Sendung dieser Agentien hiefs es: »es lag an der Labilität des Toxins, wodurch wir an der Bewertung verhindert wurden«. Leider zeigte sich diese Labilität auch während unserer Versuche in ganz aufserordentlicher Weise, so dafs von nahezu 200 Tierversuchen nur eine verhältnismäfsig kleine Anzahl verwertet werden kann. Es ist selbstverständlich, dafs ich keine Versuchsreihe ohne erneute Kontrolle angestellt habe. Überall, wo das Kontrolltier nicht unter den typischen Tetanus-Erscheinungen starb, konnte die ganze Reihe der gleichzeitig angestellten Tierexperimente nicht berücksichtigt werden.

Nach den Feststellungen des Kaiserl. Kgl. serotherapeutischen Institutes in Wien tötete 0,00002 ccm von einer Lösung 1 g Tetanustoxin + 9 g physiologische Kochsalzlösung eine Maus. Von dem antitoxischen Serum neutralisierte 0,00001 ccm die letale Mausdosis.

Die von mir angestellten, mit verschiedenen neugefertigten Lösungen des Trockentoxins vorgenommenen Prüfungen ergaben, dafs die angegebene einfach letale Dosis eine Maus nicht vor dem 4. Tage tötete. Von der Verwendung des Antitoxins mufste ich Abstand nehmen, da die damit injizierten Mäuse alle schnell unter schweren Vergiftungserscheinungen starben. Eine bakterielle Noxe konnte ich aber in dem Serum nicht finden.

Ich verschaffte mir daher ein Behringsches Tetanusheilserum (61a) von der Firma Dr. Siebert und Dr. Ziegenbein, das sechsfach normal war.

Da nach der Behringschen Berechnungsweise 0,1 ccm eines Normalserums = —4500000 Ms ist, d. h. die für 4500000 g Mausgewicht tödliche Giftdosis neutralisiert, so war 1 ccm dieses Serums = —270000000 Ms. Von diesem Serum stellte ich mir eine Lösung her, von der 0,05 ccm = —13,5 Ms waren, also eine Maus von mittlerem Gewicht vor der tödlichen Giftdosis schützten. Versuche bestätigten die berechnete Wirkung dieses Antitoxins. Der Nachweis desselben in dem Blute der damit gefütterten Meerschweinchen mufste natürlich an dem für

das Tetanusgift so empfindlichen Mauskörper versucht werden[1]). Hier war der »Glattwert« durch die Serummenge dargestellt, die eine mit der tödlichen Giftdosis injizierte Maus vollkommen vor Erkrankung schützte. Geringere Mengen liefsen sich noch dadurch nachweisen, dafs der Tod der tetanusvergifteten Mäuse um einige Zeit aufgehalten wurde, oder dafs nur leichte, nicht zum Exitus führende tetanische Erscheinungen auftraten.

Ich habe an 19 junge und ein altes Meerschweinchen bis zur Zeit der Niederschrift das Tetanus-Antitoxin verfüttert.

Im Blute von vier aus verschiedenen Würfen stammenden unbehandelten neugebornen und einem alten Meerschweinchen fand sich kein Tetanus-Antitoxin.

1. 5. XII. 1904. Junges Meerschweinchen Cc III, 55 g schwer, erhielt mittels Ballpipette am ersten Lebenstage 3 ccm des Behringschen Tetannsheilserums 61a — 6fach normal — verfüttert. Da nach der Behringschen Berechnnngsweise 0,1 ccm Normalserums = — 4500000 Ms[2]), so ist 1 ccm eines 6fach normalen Antitoxins = — 270000000 Ms zu setzen und es wnrde somit an das Meerschweinchen eine Dosis verfüttert, die eine für 710 Millionen Gramm Mänse tödliche Dosis paralysierte.

Das Tier wurde 5 Stunden nach der letzten Fütterung entblntet.

Die Prüfung ergab:

| | Einfach tödl. Giftdosis vermischt mit | Versuchstier | Verlanf |
|---|---|---|---|
| 10. XII. 04. | 0,02 ccm Serum Cc III | Ms 88, Gew. 15 g | 11. XII. mobil<br>12. XII. Deutl. tetan. (RH[3])<br>13. XII. Schwerer Streckkrampf<br>14. XII. Morgens tot aufgefunden. |

1) Ich bediente mich stets der gleichen Technik, spritzte die Flüssigkeiten hinten über dem rechten oder linken Oberschenkel ein, liefs Toxin nnd zu prüfendes Serum mehrere Stnnden (zumeist über Mittag) vor der Injektion anfeinander einwirken nnd rnndete auf ein Gesamtvolum von 0,4 ccm auf, sowelt nicht gröfsere zn prüfende Sernmmeugen ein Hinaus gehen über dies Volumen erforderten.

2) d. h. also nach der oben gegebenen Erklärung: es neutralisiert die für 4500000 g Mäusegewicht tödliche Giftdosis.

3) Mit diesen Abkürznngen ist bezeichnet: RH: Rechtes Hinterbein- LH: Linkes Hinterbein.

| | Einfach tödl. Giftdosis vermischt mit | Versuchstier | Verlauf |
|---|---|---|---|
| 10. XII. 04 | 0,03 ccm Serum Cc III | Ms 89, Gew. 12 g | 11. XII. mobil<br>12. XII. schwach tetan (LH.)<br>13. XII. LH schwerer Streckkrampf<br>14. XII.<br>15. XII. } schwer tetan.<br>16. XII.<br>17. XII. Morgens tot aufgefunden. |
| | 0,05 ccm Serum Cc III | Ms 90, Gow. 12 g | 11. XII. mobil<br>12. XII. mobil<br>13. XII. Morgens tot aufgefunden. |
| | 0,1 ccm Serum Cc III | Ms 91, Gew. 15 g | 11. XII. mobil<br>12. XII. RH starker Streckkrampf<br>13. XII. Morgens tot aufgefunden. |
| | 0,3 ccm Serum Cc III | Ms 92, Gew. 15 g | 11. XII. mobil<br>12. XII. LH beeinträchtigt<br>13. XII. LH deutl. beeinträchtigt<br>14. XII. LH schwer. Streckkrampf<br>15. XII. ganz schwer tetan.<br>16. XII. Abends tot. |
| | Kontrolle I (nur Giftlösung) | Ms 94, Gew. 15 g | 11. XII. mobil<br>12. XII. LH Streckkrampf<br>13. XII. schwer. Streckkrampf<br>14. XII. sehr schwer tetan.<br>15. XII. Morgens tot aufgefunden. |
| | Kontrolle II | Ms 95, Gew. 15 g | 11. XII. mobil<br>12. XII. LH Streckkrampf<br>13. XII. schwerer Streckkrampf<br>14. XII. sehr schwer tetan.<br>15. XII. Morgens tot aufgefunden. |
| | Kontrolle III | Ms 96, Gew. 15 g | 11. XII. mobil<br>12. XII. sehr schwer tetan. Beiders. H schwere Streckkrämpfe<br>13. XII. Morgens tot aufgefunden. |

Resultat: Der Verlauf bei Ms 90 ist nicht typisch. Berücksichtigen wir diese nicht, so sehen wir bei den drei Kontrollmäusen Tod am 3. bis 5. Tag. Über diese Zeit hinaus blieben am Leben die mit 0,03 und mit 0,3 ccm Serum injizierte Maus. Es ergibt sich somit keine Todeszeit der einzelnen Tiere, die

mit den ansteigenden Serummengen parallel läuft, indessen hat es den Anschein, als ob der Tod durch die Serumbeimischung etwas hinausgeschoben wurde, also geringere Antitoxinmengen ins Serum wirklich übergegangen wären.

II. 5. XII. Junges Meerschweinchen Cc IV, 45 g schwer, vom gleichen Wurf wie das vorige, erhält gleichzeitig 3,5 ccm des 6fachen Tetanus-Antitoxins = — 845 Millionen Ms.

Tötung wie beim vorigen.

Die Prüfung ergab:

| | Einfach tödl. Giftdosis vermischt mit | Versuchstier | Verlauf |
|---|---|---|---|
| 10. XII. 04. | 0,25 ccm Serum Cc IV | Ms 93, Gew. 15 g | 11. XII. mobil<br>12.—22. XII. stets mobil geblieben |
| | Kontrolltiere | Ms 94—96 | wie beim vorigen Versuch. |

Resultat: Der Übergang von Tetanus-Antitoxin durch die Fütterung ins Serum des neugebornen Meerschweinchens ist durch diesen Versuch sichergestellt.

Die folgenden beiden Experimente können vielleicht noch verwertet werden, alle anderen führe ich aber gar nicht an, weil stets wieder die Kontrolltiere zeigten, dafs das Gift weiter an Wirkung abgenommen hatte[1]).

III. 9. XII. 1904. Meerschweinchen Dd I, 70 g schwer, erhält per os am Tag der Geburt 3 ccm des Siebert-Ziegenheinschen 6fachen Tetanus-Antitoxins = — 710000000 Ms.

Enthintnng $3^1/_2$ Stnnden nach der letzten Fütterung.

Prüfung zusammen mit dem folgenden Tier.

1) Trotzdem ich schliefslich Mengen nahm gleich der nrsprünglich 4fachen Giftdosis, gelang es mir nicht mehr, hei den Kontrolltieren einen regelmäfsig verlaufenden Tetanus herbeizuführen. Oft hatten noch wenige Tage zuvor die Versuche mit frisch hergestellten Giftlösungen ein deutliches Resultat ergeben, wenn ich aber dann, sobald diese Versuche beendigt waren, zur Prüfnng der Gift-Sernmmischungen schritt, war in dieser Zeit der Toxingehalt wieder so weit verringert, dafs die Kontrolltiere keinen regulären Tetanus mehr zeigten.

In einigen Versuchen beobachtete ich sogar die paradoxe Erscheinung, dafs alle mit dem Sernm gespritzten Tiere noch vor den Kontrollmänsen starben. So opferte ich eine Menge Zeit und Versuchstiere nmsonst.

1V. 10. XII. 1904. Meerschweinchen Dd II, 70 g schwer, erhält am 2. Lebenstag 3,5 ccm des Siehert-Ziegenbeinschen 6fachen Tetanus-Antitoxins = — 845 Millionen Ms. Enthlutung 3½ Stunden nach der letzten Fütterung.

Die Prüfung des Serums der beiden Meerschweinchen ergab:

| | Einfach tödl. Giftdosis vermischt mit | Versuchstier | Verlauf |
|---|---|---|---|
| 13. XII. | 0,02 ccm Sernm DdI | Ms 97, Gew. 15 g | 14. XII. Morgens tot. |
| | 0,03 ccm Serum DdI | Ms 98, Gew. 15 g | 14. XII. Ziemlich mohil<br>15. XII. RH deutl. Streckkrampf<br>16. XII. Abends tot. |
| | 0,05 ccm Sernm DdI | Ms 99, Gew. 15 g | 14. XII. mobil<br>15. XII. RH Streckkrampf<br>16. XII. Abends tot. |
| | 0,1 ccm Sernm DdI | Ms 100, Gew. 15 g | 14. XII. mohil<br>15. XII. Morgens tot aufgefunden. |
| | 0,2 ccm Sernm DdI | Ms 101, Gew. 15 g | 14. XII. mohil<br>15. XII. LH deutl. Streckkrampf<br>16. XII. LH schwer tetan.<br>17. XII. Morgens tot. |
| | 0,02 ccm Serum DdII | Ms 102, Gew. 15 g | 14. XII. mobil<br>15. XII. sehr mobil, etwas hochbeinig<br>16. XII. } sehr mobil<br>17. XII. }<br>18. XII. mohil, etwas hochheinig<br>19.—21. XII. vollkommen mobil. |
| | 0,03 ccm Serum DdII | Ms 103, Gew. 15 g | 14. XII. mobil<br>15. XII. schwer krank, aber nicht tetan.<br>16. XII. etwas erholt, keine Streckkrämpfe<br>17. XII. Morgens tot aufgefunden. |
| | 0,05 ccm Serum DdII | Ms 104, Gew. 15 g | 14. XII. mobil<br>15. XII. genau wie Ms 103<br>16. XII. Ahends wieder sehr mobil<br>17. XII. Morgens tot aufgefunden. |
| | 0,1 ccm Serum DdII | Ms 105, Gew. 15 g | 14. XII. mobil<br>15. XII. genau wie Ms 103<br>16. XII. Abends wieder sehr mohil<br>17. XII. Morgens tot aufgefunden. |

| | Einfach tödl. Giftdosis vermischt mit | Versuchstier | Verlauf |
|---|---|---|---|
| 13. XII. | 0,2 ccm Serum DdII | Ms 106, Gew. 15 g | 14. XII. mobil<br>bis 22. XII. vollkommen mobil; nicht weiter beobachtet. |
| | 0,25 ccm Serum DdII | Ms 107, Gew. 17 g | 14. XII. mobil<br>bis 22. XII. vollkommen mobil; nicht weiter beobachtet. |
| | nur Gift (Kontrolle) | Ms 108, Gew. 15 g | 14. XII. mobil<br>15. u. 16. XII. vollkommen mobil<br>17. XII. LH beg. Streckkrampf<br>18. XII. Morgens tot aufgefunden. |

Resultat: Will man die bei der Kontrollmaus 108 notierten Krankheits-Erscheinungen als richtigen Verlauf einer Tetanusvergiftung anerkennen (und man kann sicher anderer Meinung sein), so fällt immer noch an einer Anzahl der übrigen Versuchstiere ein atypisches Verhalten auf, das nicht auf Rechnung des Tetanustoxins zu setzen ist. So sind gewifs die drei im selben Käfig gewesenen Mäuse 103—105 einer anderen Ursache erlegen[1]). Auch der Tod der Mäuse 97 und 100 ist wohl nicht durch das Tetanusgift erfolgt. Sehen wir aber von diesen Tieren völlig ab, was die grofse Anzahl der mit den zwei Seris behandelten Mäuse gestattet, so scheint aus diesem Versuche hervorzugehen, dafs in das Serum DdI kein Antitoxin übergetreten ist, während sich solches in dem Serum von Dd II nachweisen liefs.

Hiermit schliefse ich den Bericht über diese Versuchsreihe. Wegen der vielen, nicht verwendbaren Resultate verwarf ich schliefslich das so labile Paltaufsche Gift. Die Güte von Exzellenz von Behring setzte mich in den Besitz eines anderen trockenen Tetanustoxins Nr. VIII und eines Tetanus-Heilserums Nr. IVa.

1) Die bakteriologische Untersuchung hatte negativen Erfolg. Ich habe es aber öfter erlebt, dafs in einem sauber gehaltenen Käfig Mäuse ohne erweisbare Ursache eingingen.

Die Titrierung dieses Giftes, das nach den von Herrn Privatdozenten Dr. Römer freundlichst zur Verfügung gestellten Daten vor einem Jahr die Werte hatte:

$$1\ g = 10\,000\,000 + Ms$$
$$= 40\,000\,000 + ms$$
$$= 60\,000\,000 + M,$$

nahm ich auf folgeude Weise vor:

Ich ging aus von einer frischen 5proz. Lösung des Trockengiftes und stellte von der klar über dem Bodensatz stehenden Flüssigkeit die notwendigen Verdünnungen her. Jede Maus bekam 0,4 ccm Flüssigkeit RH eingespritzt, es wurde bei der Bestimmuug des direkten Giftwertes das Gewicht der Tiere genauestens berücksichtigt, die Mischungen für die einzelnen Injektionen wurden stets in 10—25-facher Menge hergestellt, um auch kleinste Fehler auszuschliefsen.

Die Prüfung des direkten Giftwertes ergab (von der Wiedergabe der notwendigen Berechnungen mufs ich an dieser Stelle absehen):

1 g des Trockengiftes geprüft auf
20 Millionen + Ms = Spur von Beeinträchtigung, nichts deutlich Tetanisches
10 Millionen + Ms = leicht krank (tetanisch), erholt sich
5 Millionen + Ms = mäfsig krank, erholt sich
4 Millionen + Ms = mäfsig krank, erholt sich
3 Millionen + Ms = schwer krank, tot innerhalb v. 4 Tagen
2 Millionen + Ms = schwer krank, tot innerhalb v. 4 Tagen
1 Million + Ms = tot innerhalb von 24 Stunden.

1 g des Giftes demnach = 3 Millionen + Ms.

Die Prüfung des indirckten Giftwertes (Toxin und Antitoxin wirkten hierbei vor der Einspritzung 4 Stunden aufeinander ein) ergab:

80 Millionen + ms = gesund
40 Millionen + ms = schwer krank, tot innerhalb v. 3 Tagen
30 Millioneu + ms = tot inuerhalb von 2 mal 24 Stunden

25 Millionen + ms = tot innerhalb von 30—36 Stunden
20 Millionen + ms = } ebenso
15 Millionen + ms = }
10 Millionen + ms = } tot innerhalb von 24 Stunden
5 Millionen + ms = }

1 g des Giftes demnach sicher + 40 Millionen = ms.

Mit diesem Tetanustoxin wurden nun die weiteren Versuche vorgenommen.

V. 13. V. 1905. Meerschweinchen oo I, 1½ Tage alt, 75 g schwer, erhält während des ganzen Tages mittels Ballpipette 10 ccm Tetanus-Antitoxin 64 (a) — 8fach von Siebert und Ziegenbein, d. h. es wurde eine Dosis verfüttert, die eine für 3600 Millionen Gramm Mäuse tödliche Dosis paralysierte.

Entblutung am folgenden Morgen, 12 Stunden nach der letzten Fütterung.

Die Prüfung ergab:

| | Einfach todl. Giftdosis vermischt mit | Versuchstier | Verlauf |
|---|---|---|---|
| 30. V. 05. | 0,1 ccm Serum *oo* I | Ms 262, Gew. 10 g | 31. V. gesund<br>1. VI. leicht krank<br>2. VI. deutlich tetan.<br>3. VI. stark tetan.<br>4. VI. morgens tot. |
| | 0,3 ccm Serum *oo* I | Ms 263, Gew. 10 g | Bei wochenlanger Beobachtung völlig gesund geblieben. |
| | nur Gift (3 Kontrollen) | Ms 264, Gew. 10 g<br>Ms 265, Gew. 10 g<br>Ms 266, Gew. 10 g | Verlauf genau wie bei Ms 262, nur bei Ms 266 tritt der Tod erst am 6. VI. ein, trotzdem auch bei ihr schon am 3. VI. schwerer Tetanus vorhanden ist. |

Resultat: Der Übergang von Tetanus-Antitoxin durch die Fütterung ins Blut ist bei diesem Tier sichergestellt. Doch ist es gegenüber der riesigen verfütterten Dosis nur eine ganz verschwindende Menge, da 0,1 ccm des Serums die einfach tödliche Giftdosis nicht in der geringsten Weise beeinflufste.

VI. 26. V. 1905. Meerschweinchen ♂♂ II, 55 g schwer, wenige Stunden alt, erhält am 26. und 27. V. 1905 zusammen 7 ccm 8faches Siebert-Ziegenbeinsches Antitoxin per os = einer Dosis, welche 2520 Millionen Gramm Mäuse vor der tödlichen Giftdosis schützt.

Entblntung 5 Stunden nach der letzten Fütternng.

Die Prüfung ergab:

| | Einfach tödl. Giftdosis vermischt mit | Versuchstier | Verlauf |
|---|---|---|---|
| 30.V. 05. | 0,05 ccm Serum ππ II | Ms 258, Gew. 10 g | während wochenlanger Beobachtnng völlig gesund geblieben. |
| | 0,1 ccm Sernm ππ II | Ms 259, Gew. 10 g | ebenso |
| | 0,2 ccm Serum ππ II | Ms 260, Gew. 10 g | ebenso |
| | 0,5 ccm Serum ππ II | Ms 261, Gew. 10 g | ebenso |
| | nur Gift (3Kontrollen) | Ms 264—266 | vgl. den vorigen Versuch. |

Resultat: Deutlicher Übergang von Antitoxin ins Blut. Auch die geringste geprüfte Serumdosis von 0,05 ccm paralysierte bereits die einfach tötliche Giftdosis.

VII. 7. VI. 1905. Eine letzte Prüfung nahm ich noch mit 5 Seren von neugeborenen Meerschweinchen (Qq I und II, Ss I, II und III) vor, die vor 5 Monaten mit je 2 resp. 3 ccm eines 8fachen Tetanus-Antitoxins gefüttert waren. Ich berichte hierüber nur summarisch, weil auch jetzt wieder die Giftlösnng sich als äufserst labil erwies.

Am 5. VI. frisch hergestellt, tötete die einfach tödliche Dosis eine Maus in ca. $2^1/_2$ Tagen. Die $1^1/_2$fache tödtliche Dosis vermochte aber bei den noch nicht 2 Tage später angestellten Versuchen gleichschwere Kontrollmänse erst am 10. Tage nach einem sehr chronisch verlaufenen Tetanus zu töten.

Die Sera der Tiere Qq I und Qq II waren vor 5 Monaten mit gleichen Teilen physiol. Kochsalzlösung gemischt worden, seit dieser Zeit hatte sich das Volumen der Flüssigkeit stark verringert. Bei der Prüfung konnte eln Antitoxingehalt der Mischflüssigkeit nicht nachgewiesen werden.

Die Sera der Tiere Ss I, II nnd III dagegen gleich lange Zeit ohne Zusatz aufbewahrt, zeigten deutliche antitoxische Wirksamkeit. Bei allen dreien schützte schon die geringste geprüfte Serumdosis (0,1—0,1 und 0,3 ccm) die Mänse vor jeglicher tetanischer Erkrankung.

Wir haben somit einen regelmäfsigen Übergang verfütterten Diphtherie-Antitoxins ins Blut bei den neugeborenen Meerschweinchen festgestellt. Auch für das Tetanus-Antitoxin zeigte in fast allen Fällen der Magen-

darmkanal Durchlässigkeit; bei Qq I und Qq II mag der negative Ausfall der Antitoxin-Prüfuug auf die Vermischung mit Kochsalzlösung 5 Monate vor der Prâfung vielleicht zurückgeführt werden — nur bei Dd I scheint wirklich kein Antitoxin in das Blut übergegangen zu sein. Dies ist nicht allzu erstaunlich, wenn man bedenkt, wie gering[1]) überhaupt die durchschnittlich ins Blut eingedrungenen Antitoxinmengen gewesen sind.

Seit ich die Antitoxinversuche begonneu habe, siud noch zwei Veröffentlichungen von Römer, eine weitere von Polano und zwei Arbeiten von Salge erschienen, die sich mit intra- resp. extrauteriner Antitoxin-Übertragung beschäftigen. Ich mufs etwas ausführlicher auf sie eingehen, da ein Teil meiner folgenden Darlegungen ständig auf sie Bezug nimmt.

Die erste Römersche Publikation, kurz gehalten, faſste den von Polano beim Menschen gefundenen plazentaren Antitoxinübergang (wie er fürs Pferd einmal vorher bereits von Ransom beschriebeu war) gemäfs den früher zitierten Behringschen Anschauungen als eine pathologische Erscheinung auf und glaubte, das heterologe Pferdeserum als Ursache für die Durchlässigkeit des Plazentar-Überzuges ansehen zu sollen. Römer führte zur Unterstützung dieser Meinung die beim Menschen nach Heilseruminjektionen auftretenden Exanthemean, deren Zusammenhang mit einer Reizwirkung auf die Blutgefäfse bzw. auf die vasomotorischen Nerven nicht bezweifelt werden könne, und erinnerte an einige Meerschweinchen-Versuche, wo nach Injektion von 2 ccm normalen Pferdeserums nach wenigen Stunden der Tod erfolgte,

1) Ich habe bei den Tetanus-Antitoxin-Fütterungen eine approximative zahlenmäfsige Bestimmung des ins Blut übergegangenen Antitoxins unterlassen, vor allem deshalb, weil ich bei den meisten Seris infolge der so geringen zur Verfügung stehenden Mengen nicht bis zur untersten Grenze gehen konnte d. h. nicht bis zu derjenigen geringsten Serumdosis, welche die Maus gegen jegliche Erkrankung schützte, wenn sie zusammen mit der einfach tödlichen Giftdosis gegeben wurde. Wie aber aus dem Versuch V hervorgeht, wo 0,1 ccm Serum noch keine Beeinflussung der Giftwirkung erkennen liefs, sind es offenbar aufserordentlich geringe Dosen (Millionstel des Verfütterten), welche ins Blut übergehen.

wobei die Sektion ausgedehnte Transsudate in den serösen Körperhöhlen und Hämorrhagien in verschiedenen Organen ergab. Polano, der diese Anschauung nicht teilen mochte, stellte weitere Experimente an und fand nochmals in zwei Fällen, wo er der Mutter 10 resp. 19 Tage vor der Niederkunft Tetanus-Antitoxin eingespritzt hatte, Übergang desselben ins Blut des Kindes. Von seinen 3 Fällen, bei denen er den Übergang des Diphtherie-Antitoxins nachzuweisen suchte, erscheint nur einer brauchbar, weil allein bei diesem das Blut der Mutter vor der Injektion geprüft wurde und sich als antitoxinfrei erwies.

Von der Überlegung ausgehend, dafs, wenn die plazentare Antitoxinübertragung ein physiologischer Akt sei, alle die Kinder diphtherie-antitoxinhaltiges Blut haben müfsten, deren Mütter (infolge vorausgegangener Erkrankung) dies aufwiesen, stellte Polano entsprechende Versuchsreihen an. Er kommt zum Schlusse: »In allen Fällen, in denen das mütterliche Blut antitoxinhaltig befunden wurde, läfst sich einwandsfrei ein Gehalt des Fötalserums an Antitoxinen feststellen; fehlen aber die Antitoxine bei der Mutter, so sind auch beim Fötus keine vorhanden.« Hat Polano mit diesem Satze recht, so ist die Behring-Römersche Meinung von der Rolle des heterologen Serums beim Antitoxinübertritt hinfällig. Leider gibt aber Polano gerade von diesen Protokollen, da sie für die einzelnen Gruppen gleich lauten, nicht alle an (4 von 7), und in diesen 4 finden sich einige Angaben, die mich stutzig machen. Die angeregte Frage ist so wichtig, dafs ein kurzes Eingehen auf die Protokolle wohl erlaubt ist.

Im Protokoll 1a (S. 11 des Separatabdruckes) geht das Kontrolltier nach Injektion von 0,015 Diphtherietoxin nach 6 Tagen zugrunde und zeigt »Nebennierenveränderungen«; andere typische Diphtheriegiftveränderungen (lokales Ödem, Pleura-Ergufs etc.) werden nicht erwähnt. In einem andern Fall (1b) stirbt das Kontrolltier bei Injektion einer gleichen Dosis schon nach 2 Tagen. Die mit dem Blut der Mutter resp. des Kindes und der Giftdosis behandelten Tiere sterben nach 2, 3, 5 und 9 Tagen. Dies Protokoll dient zum Beweis, dafs weder das Blut der Mutter noch das des Kindes antitoxinhaltig war.

Ich mufs gestehen, dafs mich die Aufzeichnungen daran denken lassen, das Diphtheriegift Polanos habe nicht völlig seine Schuldigkeit getan, und ich bin der Meinung, dafs wir die Frage der plazentaren Antitoxinübertragung nach aktiver Immunisierung der Mutter als durch die Polanoschen Versuche vorläufig nicht entschieden erklären müssen. Es wäre deshalb sehr dankenswert, wenn Polano seine diesbezüglichen Experimente und die Obduktionsprotokolle in extenso veröffentlichen würde. —

In einer dritten Arbeit hat nun Römer nochmals das Thema aufgenommen und zahlreiche Versuche am Menschen, an gröfseren Tieren und an Meerschweinchen und Kaninchen veröffentlicht. Er fand (in Bestätigung der Polanoschen Arbeiten) regelmäfsigen Übergang von Antitoxin beim Menschen, bei Kaninchen beobachtete er ihn in manchen, bei Meerschweinchen in den meisten Fällen, bei Schafen und Rindern nie.

»Betrachten wir dies Gesamtergebnis — sagt er — so fällt auf, dafs wir Übergang von Antitoxin um so eher zu erwarten haben, je weiter im phylogenetischen Sinne die betreffende Tierart von dem Pferde, mittels dessen Serum die Immunisierung erfolgte, entfernt ist. Der Mensch steht phylogenetisch dem Pferd ferner als die Nagetiere und diese wiederum ferner als die mit den Pferden in die Klasse der Huftiere zusammengehörigen Schafe und Rinder. Somit erkläre ich mir den Übergang von Antitoxin durch die Plazenta hindurch auf den Fötus im Vergleich zu den Fällen, wo derselbe ausbleibt, aus einer gröfseren Durchlässigkeit derselben für das heterogene Bluteiweifs.« Also wiederum ein Zurückkommen auf die frühere Annahme von einer Schädigung der Gefäfswände, d. h. Auffassung des Antitoxinübertritts als eine pathologische Erscheinung.

Im zweiten Teil der gleichen Arbeit publiziert Römer neue Antitoxin-Fütterungsversuche, an Rindern und Schafen vorgenommen mit der Milch der passiv immunisierten Mutter. Auch diese zeigen wieder Antitoxinübergang durch den Magendarmkanal innerhalb der ersten Lebenswoche.

Die beiden Salgeschen[1]) Veröffentlichungen ergaben beim Menschen keinerlei Resorption des Antitoxins durch den Magendarmkanal, wenn es als Heilserum oder als Ziegen-Immunmilch gegeben, aber wirkliche Resorption, wenn es als Ingrediens der Menschenmilch verfüttert wurde. Salge meint demnach, dafs nur durch Vermittelung homologer, d. h. artgleicher Eiweifsstoffe Antitoxine die Magendarmwand des Säuglings passieren können.

Sehen wir zunächst also von der intrauterinen Antitoxinübertragung ab, so stehen sich gegenüber:

1. Römer, der in der ersten Lebenswoche stets positive Resultate hatte (Pferd, Schaf, Rind);
2. Salge, der bei Verfütterung des Antitoxins in Form von Pferdeserum oder Ziegenimmunmilch negative, in Form von Menschenmilch positive Resultate hatte (Mensch);
3. meine Versuche mit (einen einzigen Fall — Dd I — ausgenommen) stets positiven Resultaten (Meerschweinchen).

Ich glaube nicht fehlzugehen, wenn ich annehme, dafs v. Behring-Römer meine Befunde als vollkommene Bestätigung für ihre Ansichten ansehen werden, besonders nachdem sie (resp. Römer) den negativen Ausfall der Salgeschen Serumfütterungs-Versuche dadurch erklären, dafs die von diesem eingeführten Antitoxinmengen an zu geringe Eiweifsquantitäten geknüpft waren, die der zerstörenden Tätigkeit schon ausgebildeter proteolytischer Fermente nicht entgingen. Aber in Wirklichkeit ist der Sachverhalt kein so einfacher.

Von den Salgeschen Experimenten lassen sich für unsere Frage überhaupt nur ganz vereinzelte verwenden, weil sie fast alle an Kindern vorgenommen wurden, welche die erste Lebenswoche hinter sich, zumeist längst hinter sich hatten (Kinder bis zu 6 Monaten[2]).

1) Salge hat auch die Marxsche Methodik angewandt; ich lege Wert darauf, zu betonen (und aus dem Datum der einschlägigen Protokolle geht dies auch deutlich hervor), dafs ich ganz unabhängig von ihm die Wichtigkeit der Methode gerade für die vorliegenden Versuche erkannte.

2) Damit sei der Salgeschen Versuchsanordnung kein Vorwurf gemacht. Denn dem Autor kam es weniger auf eine Entscheidung der

Die im besten Falle verwendbaren Beobachtungen der ersten Salgeschen Arbeit (6 und 7) zeigen zwar Resorption von Antitoxin, wenn es als Bestandteil der Menschenmilch, jedoch nicht, wenn es als Pferdeserum verfüttert war. Aber Römer wies die Salgesche Erklärung, dafs es sich dabei um Unterschiede handle, die sich durch die Begriffe heterolog und homolog ausdrücken lassen, zurück unter Anführung von Tierexperimenten des Marburger Institutes, die bewiesen, dafs im Pferdeserum enthaltene Antitoxine, auch wenn sie durch die Blutbahn eines anderen Tieres (z. B. des Meerschweinchens) geschickt worden sind, genau dieselben Eigenschaften behielten, die sie vorher hatten. Mit anderen Worten, ein solches Passage-Antitoxin war seinem ganzen Verhalten nach noch immer an Pferdeeiweifs, nicht an Meerschweincheneiweifs gebunden.

In der zweiten Arbeit hat nun Salge Versuche veröffentlicht, wo die Milch gegen Diphtherie[1]) immunisierter Ziegen an Kinder verfüttert wurde, und wo wiederum keine Antitoxin-Resorption zu konstatieren war. Da hier die äufseren Bedingungen dieselben günstigen waren wie bei der Ernährung mit antitoxischer Menschenmilch, nämlich Verteilung des Antitoxins über eine bedeutendere Eiweifsmenge und daher gröfere Möglichkeit, dafs ein Teil desselben der Zerstörung durch die proteolytischen Fermente entginge, so sprechen die Versuche scheinbar gegen die Römerschen Einwände. Aber leider wird hier die Beurteilung wieder enorm erschwert durch die Eigenart der Salgeschen Versuchsanordnung.

Fall 2 (luetisches Kind) hält Salge selbst nicht für verwertbar.

---

wissenschaftlichen Frage von der Durchgängigkeit des Magendarmkanals der Neugebornen an, als auf eine Untersuchung, ob sich eine etwaige Durchgängigkeit des Intestinaltraktus bei jüngeren Kindern praktisch durch Verfütterung von Immunmilch verwerten lasse.

1) Die Versuche mit Ziegenmilch, die Typhus-Immunkörper enthielt, bespreche ich nicht, da sie an zwei 9 Wochen alten Kindern vorgenommen wurden.

Fall 3 war zu Beginn des Versuchs bereits 23 Tage alt, kann also auch keinen Anspruch auf Berücksichtigung machen. Es bliebe also nur Fall 1 übrig, wo es sich um ein 4 Tage altes Kind handelt. Bei diesem Kinde wurde aber eine Untersuchung auf Zunahme des Antitoxingehaltes (die negativ ausfiel) erst in der vierten Lebenswoche vorgenommen. Hier ist also immer die Möglichkeit offen, ja wahrscheinlich, dafs auch aus der Ziegenmilch Antitoxin resorbiert wurde, dafs es aber — weil an artfremdes Eiweifs gebunden — in der vierten Woche, d. h. zu einer Zeit, wo des Alters halber eine Neu-Resorption nicht mehr vor sich ging, wieder aus dem Blute ausgestofsen war.

Somit kann auch die neue Salgesche Arbeit nicht beweisend sein für seine Ansicht, dafs zur Resorption des Antitoxins seine Bindung an homologes Eiweifs nötig ist.

Dem Anscheine nach also besteht der Ausspruch Römers darnach noch zu Recht, mit dem er seine letzte Arbeit schliefst:

»Die praktisch wie theoretisch so bedeutungsvolle, von mir zuerst behauptete Tatsache, dafs sich der Magendarmkanal neugeborener Individuen hinsichtlich der Resorption von genuinem Eiweifs und damit auch unverändertem Antitoxin anders verhält, als der älterer und ausgewachsener Individuen, kann jedenfalls von jetzt ab als feststehend betrachtet werden.«

Allein in dieser allgemeinen Fassung kann dieser Satz nicht mehr aufrecht erhalten werden. Römer hat, weil er die Resorption von Antitoxin sah, das, allen Erfahrungen nach, stets an genuines Eiweifs geknüpft ist, geglaubt, von irgendwie umfänglicheren Mengen von genuinem Eiweifs würden stets gewisse Teile vom Intestinaltrakt des Neugeborenen unverändert resorbiert. Als die (an früherer Stelle zitierte) Arbeit[1]) von Ganghofner und Langer erschien, fafste er sie »als eine wertvolle Stütze seiner Angaben« auf.

1) Sie und die Hamburger-Sperksche Arbeit sind bisher überhaupt die einzigen gewesen, die den Übergang genuinen Eiweifses beim Neugebornen planmäfsig verfolgten. Denn bei den Antitoxinversuchen war ja stets nur das Antitoxin, niemals das Eiweifs, an das es vermutlich gebunden ist, nachgewiesen worden.

Sehen wir aber nun einmal die Ergebnisse meiner Untersuchungen an:

1. der spezifische Antikörper des hämolytischen Serums wurde nie resorbiert,
2. Kasein wurde nie resorbiert,
3. Hühnereier-Eiweifs wurde nur ausnahmsweise, bei 3 schwächlichen Tieren eines Wurfes, sonst nie resorbiert,
4. Diphtherie- und Tetanus-Antitoxin wurden (mit einer einzigen Ausnahme) stets resorbiert.

Am allerauffälligsten ist die Divergenz der Ganghofner-Langerschen und unserer Resultate bei der Verfütterung von Eiereiweifs. Zwar dachte ich zuerst, es seien vielleicht durch die von Ganghofner-Langer verwandte Fütterungsmethodik (mittelst Tubensonden) ihre Resultate beeinflufst worden, und am jungen Meerschweinchen wenigstens setzte diese Methode immer Verletzungen, sogar ziemlich grober Art (von Ganghofner und Langer auch für das junge Kaninchen angegeben). Um ein sicheres Urteil gewinnen zu können, schien es mir aber doch angebracht, einige Fütterungsversuche mit Eiklar mittels meiner Methodik an einer auch von Ganghofner und Langer gebrauchten Tierart vorzunehmen — ich benutzte hiezu das neugeborene Kaninchen.

20. III. 1905. 2 zweitägige Kaninchen $\pi$ I, 120 g schwer und $\pi$ II, 110 g schwer, werden den Vormittag über mit 7 bzw. 6 g Eiklar gefüttert. Sie nehmen dasselbe sehr ungern (im Gegensatz zu den Meerschweinchen), aspirieren[1]) infolge des Sträubens hie und da eine Kleinigkeit in den Kehlkopf, erholen sich aber sofort wieder. Etwa 5 Stunden nach der letzten Fütterung Enthlutung der Tierchen.[2]) Die Obduktion ergab ganz normale Verhältnisse. In den Mägen befanden sich noch reichliche coagulierte Massen weifsen klebrigen Inhaltes. Sehr starke Verdünnungen von ihnen,

1) Es ist nicht unwichtig dies zu bemerken, weil die Möglichkeit nicht ausgeschlossen ist, dafs das in den Kehlkopf und tiefer Aspirierte leicht resorbiert werden kann. (Vgl. Jacobs Tuberkulinversuche etc.)

2) Vorhergehende Desinfektion mit reichlich heifsem Wasser zur Entfernung etwa kleben gebliebener Eiweifsreste, dann Äther, Alkohol, Sublimat-Alkohol.

mit Eiklar-Antiserum versetzt, ergaben sehr umfängliche charakteristische Niederschläge. Es war demnach offenbar noch eine Menge des verfütterten Eiklars im Magen der Tiere selbst zurückgeblieben.

Von $\pi$ I konnte bei der Obduktion auch Blasenurin entnommmen werden, der mit dem Antiserum keinerlei Reaktion gab.

Die Untersuchung des Serums mit Eiklar-Antiserum (1:30000) ergab bei beiden Kaninchen Präzipitate in fallenden Mengen, bei $\pi$ II weniger als bei $\pi$ I. Wenn ich die früher angegebene Berechnungsart zugrunde lege, würde das Tierchen $\pi$ I ungefähr $^1/_{250}$ ccm Eiklar in seinem Gesamtblut gehabt haben, $\pi$ II etwas weniger. Wenn wir diese Zahl vergleichen mit denen, die bei den positiven Meerschweinchen-Versuchen gefunden wurden, so sehen wir trotz Verfütterung von bedeutend weniger Eiweifs (auch im Magen war sicher noch eine grofse Menge desselben zurückgehalten) beim Kaninchen eine viel stärkere Resorption als selbst bei den positiven Meerschweinchen-Versuchen.

Wir finden damit also beim Kaninchen sofort eine Bestätigung der Befunde von Ganghofner und Langer.

Um die Zeit herum, wo durch die eben geschilderten Versuche die Ursache der bisher unerklärlichen Differenzpunkte in meinen Befunden und denen anderer Autoren sich aufzuklären begann, war gerade die interessante Arbeit von Ficker: »Über die Keimdichte der normalen Schleimhaut des Intestinaltraktus« erschienen. Ficker schilderte in derselben zahlreiche Versuche, in denen er leicht nachweisbare Bakterien (B. prodigiosus, roter Kieler B.) verfütterte, und bei jungen Tieren ganz kurze Zeit nach der Verfütterung im Blut und fast allen Organen nachweisen konnte. Die Untersuchungen waren so peinlich und exakt vorgenommen, dafs die Herkunft der gefundenen Bazillen aus den verarbeiteten Organen wohl sicher gestellt schien. Da die Fickerschen Experimente meinen Bakterien-Fütterungsversuchen (mit Micrococcus tetragenus und mit Milzbrandbazillen[1]) direkt

1) Die Sonderstellung der Tuberkel-Bazillen in dieser Hinsicht habe ich ja an früherer Stelle betont.

widersprachen, unternahm ich, auch sie nachzuprüfen. Ich lasse die Versuche hier folgen:

I. 28. II. 1905. Meerschweinchen Ww I, 60 g schwer, $1^1/_2$ Tage alt, wird mit zwei dichtgewachsenen 24stündigen Prodigiosus-Agar-Oberflächen mittels Glasöse gefüttert.

Während der Fütterung ist es in ein Leinentuch so eingefatscht, dafs es mit den Pfoten die an der Schnauze noch hängenden Prodigiosuskeime nicht an den Körper bringen kann.

In diesem Tuche bleibt es bis zur Tötung, die eine Stunde nach der Fütterung durch Strangulation schnell erfolgt, um Aspiration von Prodigiosus in die Lunge zu verhindern. Nach der Tötung wird die Schnauze in der Flamme völlig verkohlt, dann das ganze Tier nach vorherigem Abrasieren und Desinfizieren der Brust- und Bauchhaut mit sterilen Instrumenten vom Diener völlig abgebalgt. Hierauf wird es mit Lysollösung übergossen und auf ein steriles Brett aufgenagelt. Die Fütterung des Tieres, die Tötung und Abbalgung und Verarbeitung der Organe werden zur sicheren Vermeidung der Luft-Infektion in drei Laboratorien in drei verschiedenen Stockwerken vorgenommen. Zur Verarbeitung selbst werden eine grofse Anzahl trocken sterilisierter[1]) Instrumente benutzt, für jedes Organ neue. Die Organe selbst werden erst zerschnitten und dann in sterilen Mörsern (zunächst ohne Bouillonzusatz) verrieben. Es werden die kleinen Organe zur Impfung der Bouillonröhrchen völlig verbraucht, von den grofsen verschieden umfängliche Stücke. Die Bouillonröhrchen werden 10 Tage lang bei einer Temperatur von 22° beobachtet, überall, wo Bakterien-Wachstum zu sehen ist, wird auf Platten weiter geimpft. Zu jedem Versuch wird 1—$1^1/_2$ l Bouillon benutzt. — Das Ergebnis dieses ersten Meerschweinchen-Experimentes war ein absolut negatives. Während der Bacillus prodigiosus bis tief hinunter in den Dickdarm nachweisbar war, enthielten 28 Bouillonröhrchen und 8 Bouillonkölbchen von beiden Nieren, beiden Lungen, Leber, Milz, Mesenterialdrüse, Herzblut, keine Prodigiosuskeime.

1) Nur beim ersten Meerschweinchenversuch ausgekochter

II 7. III. 1905. Meerschweinchen Xx I, 46 g schwer, unter 2 Tage alt, mit zwei dichtgewachsenen 24stündigen Prodigiosus-Agaroberflächen gefüttert. Tötung nach 1 Stunde.

Die Versuchsanordnung war genau die gleiche.

21 Bouillonröhrchen und 8 Bouillonkölbchen aus beiden Lungen, Leber, beiden Nieren, Mesenterialdrüse, Herzblut und Milz und zahlreiche von diesen angelegte Agarkulturen, zeigten nirgends Prodigiosuskeime, während dieselben reichlich bis in die tiefsten Darmabschnitte hinunter nachweisbar waren. —

Es ergab sich also ein absoluter Gegensatz zu den Fickerschen Untersuchungen. Da Ficker keine Meerschweinchen benutzt hatte, und nachdem ich eben durch die positiven Eiweifs-Fütterungs-Experimente beim Kaninchen überrascht worden war, nahm ich nun die gleichen Versuche mit Prodigiosus mit genau gleicher Versuchsanordnung an Kaninchen vor.

III. 28. III. 1905. Junges Kaninchen ♀ I, 43 g schwer, wenige Stunden alt, wird mit zwei gut gewachsenen 24 Stnnden alten Prodigiosus-Agaroberflächen gefüttert. Nach 1 Stunde Tötung durch Strangulation.

Mit dem Blut und den verschiedenen Organen werden 9 Bouillonkölbchen und 18 Bouillonröhrchen beschickt, von diesen wird noch auf Agarplatten weitergeimpft.

Resultat: Es gelingt, in Leber, rechter Niere, rechter und linker Lunge, sowie Herzblut Prodigiosus nachzuweisen, ebenso im Darminhalt bis nahe dem After.

IV. Junges Kaninchen ♀ II, 45 g schwer, Geschwister des vorigen, $^1/_2$ Tag alt, wird mit zwei gutgewachsenen Prodigiosns-Agaroberflächen gefüttert.

Nach 1 Stunde Strangulation.

Mit dem Blut nnd Organen werden 10 Bouillonkölbchen und 22 Bonillonröhrchen beschickt. Weiterimpfnng auf Agarplatten.

Resultat: Es gelingt, im Herzblut, beiden Nieren und beiden Lungen Prodigiosus nachzuweisen, ebenso im Darminhalt bis nahe dem After.

Es zeigten also die an Kaninchen vorgenommenen Fütterungsversuche mit dem B. prodigiosus (im Gegensatz zu den Meerschweinchen-Versuchen) ebenso positive

Resultate wie die kurz vorher vorgenommene Verfütterung vom Eiklar.

Hierdurch ist einerseits eine vollständige Bestätigung der Befunde von Ficker wie von Ganghofner und Langer gegeben und anderseits der exakte Beweis geliefert, dafs der Magendarmkanal des neugebornen Meerschweinchens sich sowohl den genuinen Eiweifskörpern wie den Bakterien gegenüber anders verhält wie der des nahe verwandten Kaninchens[1]) und der anderer entfernter stehender Tierarten.

Damit ist also die Anschauung der Marburger Schule widerlegt, dafs jegliches neugeborne Individuum (Säugetier ist wohl bei dem oben zitierten Römerschen Satz gemeint) einen für Eiweifsstoffe [und Bakterien] durchgängigen Magendarmkanal hat. Nun wäre aber nach all den negativen Versuchen mit den geprüften nativen Eiweifskörpern zu erwarten gewesen, dafs auch die Antitoxine nicht vom Intestinaltrakt des Meerschweinchens durchgelassen würden — insoferne man die bis jetzt fast allgemeine Ansicht teilt, dafs sie an natives Eiweifs untrennbar gebunden sind.

Das Passieren dieser Stoffe durch die Plazentarwand hält Römer für eine pathologische Erscheinung, die er durch die irritierende Wirkung des heterologen Serums erklärt. Ohne diese Ansicht, dafs gerade das heterologe Serum es ist, was die pathologischen Erscheinungen hier auslöst, damit unbedingt zu teilen, stelle ich nun die Frage: Sollte nicht auch der Durchgang der nativen Eiweifsstoffe durch die Magen-

1) Ich mache übrigene darauf aufmerksam, dafs auch der Intestinaltrakt des älteren Kaninchens offenbar eine gewisse Neignng hat, Bakterien durchtreten zu lassen (Ficker, Klimenko u. a.). Tiere, bei denen im Experiment eine solche Durchlässigkeit des Darmes konstatiert wurde, mufsten nach dem Obduktionsbefnnd z. T. als ganz normal bezeichnet werden; und es blieb den Autoren weiter nichts übrig, als an mikroskopische Läslonen im Darm derselben zu glauben, wenn auch für das Kaninchen der Satz Geltung behalten sollte, dafs bei vollkommen gesunden erwachsenen Tieren die nnverletzte Darmwand für Mikroorganismen stets undurchgängig ist.

darmwand des Meerschweinchens eine pathologische Erscheinung sein?[1])

Wenn ja, haben wir Anhaltspunkte, irgend einen Stoff für die Ursache eines solchen pathologischen Vorganges halten zu können? Da mufs ich auf gewisse Erscheinungen aufmerksam machen, die mir bei den Fütterungen mit den verschiedenen Heilseris aufserordentlich auffielen.

Während das hämolytische Serum, die Milch, das Eierklar von den jungen Meerschweinchen gerne und ohne vieles Sträuben geschluckt wurde, nahmen sie gerade die Heilsera mit grofsem Widerwillen. Ich gehe sicherlich nicht fehl, wenn ich als Ursache den zur Konservierung zugesetzten Karbolsäuregehalt beschuldige. Dennoch blieb den Tierchen nichts anderes übrig, als die ins Maul getropfte Flüssigkeit zu schlucken. Ein Würgen oder Erbrechen findet ja, wie auch kürzlich Emmerich betont hat, beim Meerschweinchen nicht statt. Ich erlebte nun regelmäfsig (und habe nie versäumt, meinen Mitarbeitern am Institut dies zu demonstrieren) nach der Verfütterung der karbolsäurehaltigen Sera eine eigenartige Krankheitserscheinung bei den gefütterten Tierchen. Wenige Minuten nach der Eingabe des Serums legten sie sich platt auf den Bauch und machten eigentümliche scharrende Bewegungen mit den Hinterbeinen (es waren nicht etwa klonische Krämpfe): man hatte völlig den Eindruck, als ob die Tiere an Koliken litten, und durch diese Bewegungen sich Erleichterung schaffen wollten. Dabei hatten die Tierchen öfters kühle Ohren, also Zustände, die etwas an Kollaps erinnern. Dafs es sich nicht um Aspirationserscheinungen gehandelt haben kann, geht daraus hervor, dafs ich bei den regelmäfsig vorgenommenen Obduktionen oft gar keine Veränderung in den Lungen sah; wenn ich pneumonische Herdchen fand, so waren sie nicht zahlreicher und umfangreicher als bei Verfütterung

1) Diese Frage gewinnt um so mehr Berechtigung, wenn man — wie Polano — aus der Ähnlichkeit des placentaren Zotten- und Darmepithels Ähnlichkeiten in ihrem physiologischen (und natürlich auch pathologischen) Verhalten schliefst.

anderer Körper.[1]) Auch erholten sich die Tiere ziemlich rasch wieder. Wenn ich die Tötung verhältnismäfsig schnell nach der Verfütterung vornahm, so zeigten sich die Mägen noch prall angefüllt von Flüssigkeit, also waren sicher Störungen in der motorischen Funktion des Organs vorhanden. Bei Verfütterung anderer Flüssigkeiten dagegen war die Entleerung des Magens eine viel schnellere. Dafs ich Kontrollversuche anstellte mit Normalserum allein und mit Normalserum, dem eine entsprechende Karbolsäuremenge beigemengt war, ist wohl selbstverständlich. Es zeigte sich, dafs wirklich die Karbolsäure es war, welche die geschilderten klinischen Erscheinungen verursachte. Ich glaubte zunächst, vielleicht auch ein pathologisches Substrat derselben durch die anatomische Untersuchung der Mägen finden zu können. Makroskopisch zeigte sich nichts, bei der mikroskopischen Durchforschung vieler Serien meinte ich in der Tat anfangs Epithelveränderungen zu sehen. Als ich aber die empfindlichen Mägen vor der Fixierung auf Kork aufspannte und dadurch jede Berührung mit der Glaswand vermied, konnte ich keine Unterschiede mehr finden zwischen denen, die karbolsäurehaltige Medien enthalten hatten und den anderen.

Ich bin nach dem Dargelegten überzeugt, dafs die Karbolsäure vorübergehende Vergiftungserscheinungen bei den jungen[2]) mit Heilseris gefütterten Meerschweinchen erregt. Es liegt nahe, daran zu denken, dafs durch diese Erscheinungen Veränderungen gesetzt werden, die den Durchtritt des Antitoxins durch die Magendarmwand begünstigen. Behaupten möchte ich es nicht, denn es fehlt an den sicheren Beweisen; aber ich mufs gestehen, dafs ich Versuche mit antitoxischen Seris, denen kein Konservierungsmittel beigesetzt ist, für recht wünschenswert hielte. (Dafs auch

1) Absolut lassen sich bei dem Einfliefsen in das Maul gelegentliche Aspirationsherdchen nicht vermeiden. Diese kleine Fehlerquelle (vgl. hierzu Fickers zweite Arbeit), welche meine Technik mit sich bringt, ist aber gewifs annehmbarer als diejenige, welche bei jeder anderen Art von Fütterung (durch Sonde beispielsweise) infolge der nicht zu umgehenden Epithelverletzungen entstehen.

2) Meinen Versuchen am alten Meerschweinchen nach treten bei diesen die genannten Vergiftungserscheinungen nicht auf.

die anderen Autoren gleich mir mit konservierten Seris gearbeitet haben, hat alle Wahrscheinlichkeit für sich.)

Die besondere Ausnahmestellung, die der Antitoxinübergang bei dem für die nativen Eiweifskörper sonst undurchlässigen Meerschweinchen-Intestinum einnimmt, verdiente gewifs der Aufklärung. Bei den anderen Tieren, den Hunden, Kaninchen, Kätzchen, Zickeln usw. scheinen nach den öfters zitierten Untersuchungen geänderte physiologische Verhältnisse vorzuliegen. Diese können kaum in anderen vitalen Vorgängen zu suchen sein als in denen der Magen- und Darmsaftsekretion[1]).

Besonders Gmelin hat in zwei Arbeiten gezeigt, dafs bei jungen Hunden der Magensaft in den ersten Wochen noch eine recht ungenügende Zusammensetzung hat. Gegenüber Cohnheim und Soetbeer, die psychischen Magensaft von saurer Reaktion fanden, betont er neuerdings, dafs diese Autoren dadurch getäuscht worden seien, dafs sie den Magensaft mit Nélaton- und Gummikathetern aspirierten, diese Katheter aber eine Säure enthalten, welche die Günzburgsche Probe positiv verlaufen läfst. Gmelin hält nach seinen erneuten Versuchen daran fest, dafs in den ersten Wochen sich Milchsäure im Magen des Hundes finde, aber keine Salzsäure[2]). Seiffert betont in seinem Milchwerk das Fehlen der Pepsinbildung beim Neugeborenen. Dafs bei so ungenügenden Sekretionsverhältnissen kleine Mengen eingeführter Eiweifskörper der Denaturierung entgehen und somit unverändert zur Resorption gelangen können, ist leicht verständlich.

Ob aber die Gmelinschen und die anderen Untersuchungen für das Meerschweinchen zutreffen, mag füglich bezweifelt werden. Das Meerschweinchen verhält sich in seinen ersten Lebenstagen ganz anders wie unsere übrigen Laboratoriumstiere. Es ist bereits reich behaart, selbständig, frifst

1) Auf etwaige anatomische Gründe, die bei den Neugebornen den Eiweifs- und Bakterienübertritt verursachen könnten (Disse), komme ich im Anhang II zurück.

2) Über die Salzsäure-Sekretion beim Menschen habe ich bereits in der Einleitung ausführlicher gesprochen.

vom ersten Lebenstag an Gras, Heu und Rüben, wie ich mich bei vielen Sektionen überzeugen konnte, und es vermag, ganz früh von der Mutter getrennt, ohne deren wärmeverleihenden Schutz und ohne die Muttermilch zu gedeihen. Wie anders beispielsweise die Maus oder das Kaninchen. Sie sind blind, fast unbehaart, völlig hilflos und bleiben nur, wenn sie an der Mutter saugen können, am Leben.

Die Ausnahmestellung, die ich für das Meerschweinchen bezüglich seines Intestinaltraktus nachgewiesen habe, ist mit dem eben Gesagten auch wohl begründet.

Aber diese Ausnahmestellung lehrt uns auch, wie sehr vorsichtig wir sein müssen, wenn wir von unseren Tierexperimenten auf den Menschen zurückschliefsen wollen. —

Aus allen unseren Versuchen am Corpus vile des Tieres wollen wir ja in letzter Instanz nur Lehren ziehen für das Verständnis physiologischer und pathologischer Vorgänge beim Menschen.

Was lehren nun die vorliegenden Untersuchungen für den Menschen? Ein absolutes Urteil, inwieweit die am Meerschweinchen erzielten Resultate auf den Menschen übertragen werden können, wird sich nicht fällen lassen. Denn nachdem sich bei zwei verwandtschaftlich so nahestehenden Tieren wie Meerschweinchen und Kaninchen so differente Verhältnisse des Intestinaltraktes ergeben haben, wird man eigentlich der Ansicht sein müssen, dafs Rückschlüsse auf den phylogenetisch so weit entfernten Menschen überhaupt unmöglich sind. Jedenfalls liegt der Sachverhalt nicht so einfach, wie Römer es für den plazentaren Antitoxinübergang annimmt, dafs dieser um so eher zu erwarten sei, je weiter ein Tier stammesgeschichtlich von dem antitoxinliefernden Individuum entfernt ist. Der Beweis hierfür ist eben der tiefgreifende Unterschied zwischen Meerschweinchen und Kaninchen. Es werden andere Verhältnisse in Betracht kommen, und zwar wird es wohl hauptsächlich die Selbständigkeit des Magendarmkanals sein, welche ausschlaggebend ist für Resorptionsmöglichkeit oder -Unmöglichkeit der nativen Eiweifse.

Der menschliche Säugling gedeiht — wie ja gerade wir Kinderärzte immer wieder betonen müssen — am besten an der Mutterbrust, aber wir sehen nicht selten, dafs bei der künstlichen Ernährung mit Kuhmilch, ja sogar bei einer ganz unzweckmäfsigen Ernährung, welche derjenigen der Erwachsenen ähnelt, Kinder vorwärts kommen und nicht erkranken. Dies beruht offenbar darauf, dafs eben dem Magen des menschlichen Säuglings schon eine gewisse Stärke in der zur Assimilation notwendigen Denaturierung des artfremden Eiweifses zukommt. Aus diesem Grunde neige ich dazu, anzunehmen, dafs die Verhältnisse des Intestinaltraktes beim Menschen mehr denen des bei der Geburt unabhängigen Meerschweinchens ähneln als denen des hilflosen Kaninchens. Eine gewisse Stütze findet diese Anschauung auch durch die Übereinstimmung der experimentellen Resultate beim Meerschweinchen und Menschen, soweit Versuche der intra- und extrauterinen Antitoxin-Übertragung vorliegen.

Ich will mich indes nicht mit zu grofser Bestimmtheit hierüber aussprechen. Meine Versuche, die eine solche Spezialstellung unseres bevorzugtesten Laboratoriumstieres ergeben haben, mahnen vielmehr zur Vorsicht und zu weiser Beschränkung bei der Verallgemeinerung der am Tierkörper erhaltenen Resultate.

Einen einzigen Punkt der Behringschen Anschauungen mufs ich noch kurz berühren, nämlich die rein physikalische Vorstellung, dafs die Schleimhäute der Erwachsenen als dialysierende Membranen fungieren, die der Jungen hingegen wie grofsporige Filter sich verhalten.

Schon Brücke hat betont, und nach ihm haben Voit und Bauer es wiederum ausgesprochen, dafs die Aufnahme der Stoffe in den Darm nicht ausschliefslich, ja nicht einmal vorzüglich durch Osmose bewirkt wird, sonst könnten Magen und Dünndarm nicht nacheinander Stunden leer sein, sondern würden schliefslich eine Flüssigkeit von der Zusammensetzung des Blutserums enthalten, die dann regelmäfsig mit dem Kot abgehen müfste. Auch Neumeister konstatiert in seinem Lehrbuch der phys. Chemie, dafs die physikalische Auffassung der Resorption als einer einfachen Diffusionserscheinung gänzlich verlassen

wurde. »Die Aufnahme der Nahrungsstoffe seitens der Darmwand scheint vielmehr in der Hauptsache durch eigentümliche vitale Vorgänge in den Zellen der Darmschleimhaut zu geschehen (Hoppe-Seyler), welche in letzter Instanz auf chemische Affinitäten zurückgeführt werden müssen (R. Heidenhain).« »Dafs bei der Resorption die Osmose nicht das Wesentliche ist, geht schon daraus hervor, dafs sogar ungelöste Substanzen, wie die Fetttröpfchen, zur Aufsaugung gelangen. Ferner ist durch eingehende Versuche festgestellt, dafs nicht einmal das Wasser, sowie die Salze bei ihrem Verschwinden aus dem Darmkanale den Diffusionsgesetzen folgen.«

Diesen Anschauungen der Physiologen, die uns freilich auch nicht völlig befriedigen können, da sie eine letzte Erklärung des »Wie und Was« der vitalen Vorgänge in den Zellen nicht geben — verleihen unsere Befunde am Intestinaltrakt neugeborener Meerschweinchen eine wertvolle Stütze. Obwohl grob anatomisch und mikroskopisch von gleichem Bau wie der Magendarmkanal anderer Tiere, unterscheidet er sich in seinem Verhalten den genuinen Eiweifskörpern und Bakterien gegenüber so aufserordentlich von diesem. Da kann also von physikalischen Gründen keine Rede sein, wir müssen vielmehr nach solchen physiologischer Natur suchen, und diese werden wir vermutlich ebenso in Verschiedenheiten des Sekretes der Magendarmdrüsen und in Unterschieden ihrer vitalen Zelltätigkeit bei den verschiedenen Spezies finden, wie sie für das neugeborene resp. ältere Tier sich bereits ergeben haben.

## Anhang I.

### Toxinverfütterung.

Bei den vielen Fütterungsversuchen mit Antitoxinen lag es nahe, auch die Toxine selbst zum gleichen Zweck mit heranzuziehen, wenngleich sie wohl keine genuinen Eiweifskörper sind.

Oppenheimer fafst den Stand unserer heutigen Kenntnisse über sie zusammen, indem er sie als hochmolekulare Körper

bezeichnet, den Eiweifsstoffen wahrscheinlich verwandt, mit ihnen in gewissen Eigenschaften korrespondierend, besonders nahestehend aber den ebenfalls in ihrer Konstitution noch völlig rätselhaften Fermenten. Den letzteren sind sie auch in ihrer Diffusibilität nahe verwandt. Insbesondere ist für sie charakteristisch, dafs sie leicht durch Dünndarm hindurch diffundieren (Chassin und Moussu).

Aus diesen Gründen gebe ich die Versuche nur anhangsweise.

Zwei Experimente mit dem Paltaufschen Diphtheriegift (Dos. let. 0,02; L + 0,45) verliefen völlig negativ. Das eine Neugeborene (H IX, 120 g schwer, $1^1/_2$ Tag alt) erhielt 0,75 ccm, das zweite (Ji I, 60 g schwer, $3^1/_2$ Tag alt) 3,75 ccm des Giftes, also Dosen, welche bei der Einspritzung ca. 40 resp. 190 Meerschweinchen von 250 g getötet hätten. Sie blieben ganz gesund. Die Obduktion am 4. resp. 6. Tag nach der Fütterung ergab vollkommen normale Verhältnisse. Wegen Mangels an Gift habe ich diese Versuche nicht fortsetzen können.

Mit dem Paltaufschen Tetanus-Toxin, von dem 1 g bei der ersten Prüfung 7500000 g Mausgewicht tötete, sind die folgenden Fütterungen angestellt.

Bei neugeborenen Mäusen erhielt ich kein Resultat. Es gelang wohl, ihnen einen Tropfen einer konzentrierten Giftlösung ins Maul zu bringen, aber die Mausmutter frafs die berührten Jungen kurz darnach auf.

Von 8 Fütterungsversuchen an neugeborenen Meerschweinchen hatten 7 entweder ein negatives oder ein zweideutiges Resultat. Bei einigen Versuchsreihen traten nämlich bei den mit dem zu prüfenden Meerschweinchen-Serum injizierten Mäusen vorübergehende Erkrankungen, ja einzelne Todesfälle auf — aber nie waren irgendwie ausgeprägte Krampferscheinungen zu beobachten.

Bei dem achten mit Tetanustoxin gefütterten Jungen dagegen liefs sich ein Übertritt des Giftes ins Blut nachweisen.

15. XII. 1904. Junges Gg II, 65 g schwer, $1^1/_2$ Tage alt, erhält per os 5 ccm einer wenige Tage alten Tetanusgiftlösung, demnach eine Dosis, die bei der Injektion für 275000 g Mausgewicht tödlich war.

Enthlutnng 3 Stnnden nach der letzten Fütterung.

Prüfung (17. XII. 04):

| Versuchstier | Gewicht | Injizierte Dosis | Verlauf |
|---|---|---|---|
| Ms 119 | 15 g | 0,02 ccm Serum Gg II | 18. XII. sehr mobil; bis 25. XII. stets mobil geblieben. An diesem Tag Beobachtung abgebrochen. |
| Ms 120 | 15 g | 0,03 ccm Serum Gg II | bis 25. XII. stets mobil geblieben. An diesem Tag Beobachtung abgebrochen. |
| Ms 121 | 17 g | 0,05 ccm Serum Gg II | 18. XII. } sehr mobil<br>19. XII. }<br>20. XII. ziemlich mobil<br>21. XII. Mobilität etwas beeinträchtigt<br>22. XII. Ebenso; gebt breitbeinig<br>23. XII. Gebt breitbeinig, Streckkrampf angedeutet<br>24. XII. Ebenso<br>25. XII. Noch breitbeinig, aber wieder beweglicher<br>26. XII. Ziemlich beweglich<br>Bis 15. I. 05 beobachtet. Erscheinungen nach und nach langsam zurückgegangen. |
| Ms 122 | 15 g | 0,1 ccm Serum Gg II | 18. XII } sehr mobil<br>19. XII. }<br>20. XII. Ziemlich mobil<br>21. XII. Gebt mit sehr breiten Hinterbeinen<br>22. XII. Linkes Hinterbein zeigt schwachen Streckkrampf<br>23. XII. Mäfsiger Streckkrampf<br>24. XII. Ebenso Maus kann sich, auf den Rücken gelegt, nur schwer umdreben<br>25. XII. Wieder beweglicher<br>26. XII. Ziemlich beweglich<br>Bis 15. I. 05 beobachtet. Bis dahin alle Erscheinungen langsam zurückgegangen. |
| Ms 123 | 15 g | 0,15 ccm Serum Gg II | 18. XII. } sehr mobil<br>19. XII. }<br>20. XII. ziemlich mohil<br>21. XII. Geht mit breiten Hinterbeinen<br>22. XII. Linkes Hinterbein zeigt etwas Streckkrampf<br>23. XII. Streckkrampf sehr deutlich. Sehr erschwerte Mobilität<br>24. XII. Mittags sterbend. Die Hinterbeine in starkem Streckkrampf<br>Obduktion: Sehr grofse Milz. |

Ich glaube nicht, dafs man hier daran zweifeln kann, dafs die Erkrankung resp. Tod der Versuchstiere durch Tetanusgift hervorgerufen wurde. Diese Feststellung ist deshalb interessant, weil man bisher annahm, dafs Toxine vom normalen Intestinaltraktus nicht resorbiert werden können.

Nencki und Schoumow-Simanowski fanden an erwachsenen Tieren, dafs nur bei Verfütterung von mehr als 100000fach letalen Dosen schliefslich Vergiftungserscheinungen auftreten.

Während Ransom annahm, dafs das aufgenommene Tetanustoxin sich unverändert im Kote wiederfinde, glauben Nencki und seine Mitarbeiter, sowie Repin und Carrière, dafs die Bakteriengifte schnell nach der Einführung in den Magendarmkanal zerstört werden, wobei die peptischen und tryptischen Fermente scheinbar eine viel bedeutendere Rolle spielen als die Säure.

Von grofsem Interesse ist die kürzlich durch Aladár Schütz an der Breslauer Kinderklinik gemachte Feststellung, dafs die Eigenschaft des Magensaftes, Diphtherietoxin zu entgiften, bei Säuglingen individuell verschieden und unabhängig von Alter, Ernährung und Ernährungszustand des Kindes ist. Solche individuelle Verschiedenheiten geben vielleicht auch die Erklärung, weshalb nur ein sicher positiver Fütterungsversuch den übrigen negativen resp. zweifelhaften gegenüber steht.

In neuerer Zeit hat auch Schmidlechner den Übergang der Toxine von der Mutter auf die Frucht experimentell festgestellt. Ich glaube aber, dafs gerade bei den Bakteriengiften ein Vergleich zwischen plazentarem und intestinalem Übergang nicht angebracht sein dürfte, weil eben die Toxine (ich erinnere hier an v. Behrings Deutung des Ransomschen Fohlenversuches) wie die übrigen Organe so auch die Plazenta des vergifteten Muttertieres schädigen werden.

## Anhang II.

### Anatomische Untersuchungen der Mägen Neugeborener nach der Disseschen Methode.

von Behring hat die generell von ihm behauptete Durchlässigkeit des Magendarmkanales Neugeborner für genuine Eiweifse und Bakterien anfänglich zurückgeführt auf Unterbrechungen der Schleimschicht im Magen derselben. Er stützte sich dabei auf eine Veröffentlichung des Marburger Anatomen Disse aus dem Jahre 1903 und stellte, als diese, insbesondere von Benda angegriffen wurde, im 5. Heft seiner Beiträge zehn neuerdings von Prof. Disse redigierte Sätze auf, die im wesentlichen darin gipfelten, dafs bei neugeborenen Tieren (mit Ausnahme des Kaninchens) und Menschen keine ununterbrochene Schleimschicht der Magenepithelien vorhanden ist. Paul Reyher hat nach Untersuchungen aus der Berliner Universitätskinderklinik für den Menschen neuerdings im vollen Gegensatz zu Disse »eine lückenlose, das Gewebe vollständig vom Magenlumen trennende Schleimlage« nachweisen können, und zwar nicht nur für den Neugeborenen, sondern schon für den älteren Fötus. Er findet sich dabei in voller Übereinstimmung mit Benda, Toldt, Fischl, Schmidt und Sacerdotti.[1]) Es dürfte deshalb vielleicht überflüssig erscheinen, meine Befunde am Meerschweinchen noch aufzuführen, um so mehr, als die letzten Veröffentlichungen der Marburger Schule von diesen anatomischen Unterschieden der Mägen neugeborener und älterer Individuen nicht mehr viel sprechen. Da ich aber eine sehr grofse Anzahl mikroskopischer Schnitte untersucht habe, und da ja aufserdem meine Experimente weitgehende Differenzen in der Durchlässigkeit des Intestinaltraktus Neugeborner bei verschiedenen Spezies ergeben haben, ist eine kurze Wiedergabe meiner Befunde wohl gerechtfertigt.

Ich habe den Disseschen Anforderungen gemäfs »viele gröfsere Schleimhautstücke an Schnittreihen« untersucht und habe mich in der Technik (Konservierung in Zenkerscher

1) Bezüglich der Literatur kann ich auf die eingehende Reyhersche Arbeit selbst verweisen.

Flüssigkeit, Bendasche Eisen-Hämotoxyliu-, dann Säure-Rubin-Färbung) vollkommen nach seinen Angaben gerichtet.

Untersucht wurden:

1. Magen des 3 Tage alten Tieres n I, mit Axb gefüttert — ca. 2000 Schnitte von sämtlichen Gegenden des Organs.
2. Magen des 2 Tage alten Tieres p I, mit Axb gefüttert — über 600 Schnitte.
3. Magen des $2^1/_2$ Tage alten Tieres H VI[1]) — ca. 1000 Schnitte.
4. Magen des 3 Tage alten Tieres $\varkappa$ II[1]) — über 120 Schnitte.
5. Eine geringere Anzahl Schnitte von den Mägen der über 24 Stunden alten Tiere *o* I und *o* II, mit Tb gefüttert.

Ganz einheitlich ging aus allen diesen Untersuchungen hervor, dafs zwischen 24 Stunden und 3 Tagen nach der Geburt, einem Alter also, wo Antitoxine auch beim Meerschweinchen stets durch den Intestinaltrakt ins Blut gelangen, eine vollkommen lückenlose Schleimschicht die Epithelien des Magens nach seinem Lumen hin abschliefst. Allerdings zeigte sich die Dicke dieser Schicht an verschiedenen Stellen verschieden stark, aber ohne dafs auffallend grofse Unterschiede vorhanden waren.

Ich darf hier noch erwähnen, dafs sich die Schleimschicht auch sehr gut an Präparaten sehen liefs, die zur Erkennung der Milzbrandbazillen (bei n I und p I) mit Löfflers Methylenblau gefärbt und dann vor der Einbettung durch Alkohol geführt waren, der mit (aus vorher behandelten Disse-Präparaten ausgezogenem) Säure-Rubin versetzt war. Hier stellte sie sich zartrosa, aufserordentlich scharf abstechend von Methylenblau, dar.

Es ergab sich übrigens auch eine schwach rosa Tinktion der Schleimschicht, wenn nach der Ziehl-Neelseuschen Methode mit Karbolfuchsin und Methylenblau gefärbt worden war.

1) Diese beiden Jungen waren mit Diphtherie-Antitoxin gefüttert worden, ihr Serum hatte aber aus äufseren Gründen nicht zur Prüfung Verwendung finden können.

## Literaturverzeichnis [1]).


1. von Behring, Tuberkulosebekämpfung. Vortrag usw. Marburg, Elwertsche Verlagsbuchhandlung. 1903.
2. Römer, Untersuchungen über die intranterine und extrauterine Antitoxinübertragung von der Mutter auf ihre Deszendenten. Berl. kl. W., B. 38, 1901, Nr. 46.
3. Flügge. Zur Bekämpfung der Tuberkulose. Dtsch. med. W., 1904, Nr. 8, S. 269.
4. Orth, Über einige Zeit- und Streitfragen aus dem Gebiete der Tuberkulose. Berl. kl. W., 1904, S. 256, 301, 355.
5. Albrecht, Über Tuberkulose-Infektion. Wochenschr. f. Tierheilkunde und Viehzucht, 1903, Nr. 40—42.
6. B. Fränkel, Diskussion zu von Behrings Vortrag (8). Ref. in Deutsche med. W., Nr. 6, S. 226.
7. A. Baginsky, Diskussion, ebenda.
8. von Behring, Phthisiogenese und Tuberkulosebekämpfung. Dtsch. med. W., 1904, Nr. 6, S. 193.
9. von Behring, Leitsätze betreffend die Phthisiogenese etc. Berl. kl. W., 1904, Nr. 6.
10. von Behring. Über alimentäre Tuberkuloseinfektionen im Säuglingsalter. Brauers Beiträge zur Klinik der Tuberkulose. Bd. 3, H. 2, S. 83.
11. Biedert, Ernährungstherapie bei Krankheiten der Kinder. S.-A. aus dem Handbuch der Ernährungstherapie und Diätetik von Leyden-Klemperer, Leipzig. Thieme.
12. Langermann, Untersuchungen über den Bakteriengehalt von auf verschiedene Art und Weise zur Kinderernährung sterilisierter und verschiedentlich aufbewahrter Nahrung, zugleich mit den Ergebnissen über ihr Verhalten im Magen selbst. Jahrb. f. Kinderheilk., Bd. 35, 1893, Seite 88.
13. Hamburger, Über die Wirkung des Magensaftes auf pathogene Bakterien. Zentralbl. f. klin. Mediz., 1890, Nr. 24, S. 425.
14. Kijanowsky, Zur Frage über die antimikrobischen Eigenschaften des Magensaftes. Wratsch, 1890, Nr. 40, S. 917 (zit. n Langermann).


1) Die Autoren sind in der Reihenfolge angeführt, die der Erwähnung der einschlägigen Arbeiten im Text entspricht.

15. Seiffert, Zur Ätiologie der akuten Verdauungsstörungen der Säuglinge. Jahrb. f. Kinderheilk. 1891, Bd. 32, H. 4.
16. Kohlbrugge, Die Antosterilisation des Dünndarmes und die Bedeutung des Cöcum. Zentralbl. f. Bakt. 1901, Bd. 29, S. 571.
17. Jundell, Das Vorkommen von Mikroorganismen im Dünndarm des Menschen. Arch. f. klin. Chir., Bd 73, H. 4.
18. van Puteren, Über die Verdauung der Säugekinder in den ersten zwei Lebensmonaten. Arh. d. Ges. der Kinderärzte in St. Petersburg.
19. Leo und Escherich, Beiträge zur Pathogenese der bakteriellen Magen- und Darmerkrank. Vortrag, Heidelberger Naturforscher und Ärzte-Versammlung 1889.
20. Heubner, Über das Verhalten der Säuren während der Magenverdauung des Säuglings. Jahrb. f. Kinderheilk., 1891, Bd. 32, H. 4.
21. Müller, Zur Kenntnis des Verhaltens von Milch und Kasein zur Salzsäure. Jahrb. f. Kinderheilk., 1892, Bd. 34, H. 4.
22. Metschnikoff, Recherches sur le choléra et les vibrions. Annales de l'Inst. Pasteur, 1894, T. VIII, p. 257 u. 529.
23. von Behring, Tuberkuloseentstehung, Tuberkulosebekämpfung und Säuglingsernährung. Beiträge zur exp. Therapie, H. 8, Berlin 1904. Hirschwald.
24. Falck, Über das Verhalten von Infektionsstoffen im Verdauungskanale. Virch. Arch., Bd. 93, 1883, S. 177.
25. Chauveau, Application de la connaissance de l'infection à l'étude de la contagion de la phthise pulmonaire etc. Bulletin de l'acad. de méd. 1868, T. 33, Nr. 22.
26. Klebs, Über die Entstehung der Tuberkulose und ihre Verbreitung im Körper. Virch. Arch., Bd. 44, 1868, S. 278.
27. Parrot, Vortrag in der Société méd. des hôpitaux. Ref. in Gazette hebdom. de méd. et de chir. 1869, Nr. 16, p. 252 u. Nr. 23, p. 363.
28. Spina, Studien über Tuberkulose. Wien 1883.
29. Johne, Die Geschichte der Tuberkulose etc. D. Zeitschr. f. Tiermed. u. vgl. Path., Bd. 9, 1883, S. 1.
30. Biedert, Die Tuberkulose des Darms und des lymphatischen Apparats. Vortrag, gehalten auf der Naturforscherversammlung zu Freiburg und seither ausgearbeitet. Jahrb. f. Kinderheilk., N. F., Bd. 21, S. 158.
31. Wesener, Kritische und experimentelle Beiträge zur Lehre von der Fütterungstuberkulose. Habilit.-Schrift, Freiburg 1885.
32. Nebelthau, Beiträge zur Entstehung der Tuberkulose vom Darm aus. Kl. Jahrb., Bd. 11, H. 4, 1903, S. 533.
33. Kossel, Weber und Heufs, Vergleichende Untersuchungen über Tuberkelbazillen verschiedener Herkunft. Tuberkulose-Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte Berlin 1904, Springer.
34. Koch, Die Ätiologie der Tuberkulose. Berl. kl. W., 1882, Nr. 15.
35. Orth, Experimentelle Untersuchungen über Fütterungstuberkulose. Virch. Arch. 1879, Bd. 76, S. 217.

36 Semmer, Über Übertragungsversuche der Tuberkulose. Dorpater med. Zeitschr., Bd. 6, 1877, S. 346, zit. nach Wesener.
37. Bollinger, Über Impf- und Fütterungstuberkulose. Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 1, S. 380, 1873.
38. Abrikosoff, Über die ersten anatomischen Veränderungen bei Lungenphthyse. Virch. Arch., Bd. 178, H. 2, S. 173.
39. Cornet, »Die Tuberkulose« in Nothnagels spezieller Pathologie und Therapie. Wien 1899, Hölder.
40. Ribbert, Über gleichzeitige primäre tuberkulöse Infektion durch Darm und Lunge. Dtsch. med. W., 1904, Nr. 28, S. 1017.
41. Tendeloo, Lymphogene retrograde Metastasen von Bakterien etc. Münchn. med. W. 1904, Nr. 35, S. 1537.
42. Tendeloo, Lymphogene retrograde Tuberkulose einiger Bauchorgane. Münchn. med. W., 1905, Nr. 21, S 988.
43. Buttersack, Wie erfolgt die Infektion des Darmes? Ztschr. f. Tuberk. Bd. 1, 1900, S. 297 u. 388.
44. Baumgarten, Lehrbuch der patholog. Mykologie. Braunschweig 1890, Bruhn.
45. Dobroklonsky, De la pénétration des bacilles tuberculeux dans l'organisme à travers la muqueuse intestinale. A. de méd. exp. etc. 1890. p. 253.
46. Tchistovitsch, Contribution à l'etude de la tuberculose intestinale chez l'homme. Annales de l'Inst. Pasteur, 1889, Nr. 5, p. 209.
47. Oppel, Lehrbuch der vergl. mikr. Anatomie der Wirbeltiere. Jena, Gustav Fischer, III. Teil, 1900.
48. Schmidt, F. Th., Das follikuläre Drüsengewebe der Schleimhaut der Mundhöhle und des Schlundes bei dem Menschen und den Säugetieren. Zeitschrift f. wiss. Zoologie 1863, Bd. 13, S. 221.
49. Drews, Zellvermehrung in der Tonsilla palatina beim Erwachsenen. Arch. f. mikr. Anat. 1885, Bd. 24, S. 338.
50. Wassermann, Maximilian, Beitrag zur Kenntnis der Infektionswege bei Lungentuberkulose. Berl. kl. W. 1904, Nr. 48, S. 1242.
51. Ito, Untersuchungen über die im Rachen befindlichen Eingangspforten der Tuberkulose. Berl. kl. W., 1903, S. 27.
52. Starck, Der Zusammenhang von einfachen, chron. und tub. Halsdrüsenschwellungen mit kariösen Zähnen. Beitr. z. klin. Chir. 1896, Bd. 16, S. 61.
53. Körner, Über die Beziehungen der Erkrankungen der Zähne zu den chronischen Schwellungen der regionären Lymphdrüsen. Inaug.-Diss. Halle 1896.
54. Partsch, Erkrankungen der Zähne nnd der Lymphdrüsen. Odontol. Blätter 1899.
55. Westenhöffer, Über die Wege der tuberkulösen Infektion im kindlichen Körper. Berl. kl. W, 1904. S. 153 u. 191.
56. Kassowitz, Kinderkrankheiten im Alter der Zahnung. Wien. Deuticke, 1892.

57. Baumgarten, Über die Übertragbarkeit der Tuberkulose durch die Nahrung und über Abschwächung der pathogenen Wirkung der Tb durch Fäulnis. Zentralbl. f. klin. Med. 1884; Bd. 5, Nr. 2.
58. von Behring, Tuberkulose. Behrings Beiträge etc. H. 5, 1902. (S. 11).
59. Grawitz, Die Eingangspforten der Tuberkelbazillen und ihre Lokalisationen im Menschen. Dtsch. med. W., 1901, Nr. 41, S. 711.
60. Perez, Über das Verhältnis des Lymphdrüsensystems den Mikroorganismen gegenüber. Zentralbl. f. Bakt. 1898, Bd. 23, S. 404.
61. Schill und Fischer. Mitt. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. 2. S. 135, zit. nach Wesener.
62. Nicolas und Descos, Passage des bacilles tuberculeux, après ingestion, dans les chylifères et le canal thoracique. Zentralbl. f. Bakt. Referate, Bd. 32, 1903. S. 306 (Autoreferat).
63. Nicolas und Descos, Der gleiche Titel. Journ. de Physiol. et de Pathol. génér. 1902, T. 4, Nr. 5, p. 910.
64. Nicolas und Descos, Passage d. b. t., après injection, de l'intestin dans les chylifères etc. Comptes rend. de la Soc. de Biol. 1902, Nr. 26, p. 987.
65. Gessner, Ist von Behrings Tuberkulosetheorie vom rein klinischen Standpunkt aus begründet? Zentralbl. f innere Med.. 1904, Nr. 31 u. 36.
66. Gessner, Über die paraportale Resorption bei Neugeborenen während der ersten Lebenstage. Münchn. med. W., 1904, Nr. 44, S. 1962.
67. von Behring, Kuhmilch als Säuglingsnahrung. Vortrag, gehalten am 17. II. 1905 in München. Kurzes Ref. in Münchn. med. W., 1905, Nr. 8, S. 386.
68. Römer, Tuberkelbazillenstämme. v. Behrings Beiträge, H. 6, 1903, (S. 53).
69. Marcantonio, Di alcune lesioni anatomiche prodotte da veleni tubercolari. Giorn. internaz. delle scienze mediche 1901, Bd. 23, S. 193.
70. Auclair, La sclérose pulmonaire d'origine tuberculeuse. Archives de méd. exp. et d'anat. path. 1900. T. 12. 1. Sér.
71. Burdon-Sanderson, Recent researches on tuberculosis. Ediuburgh medical Journal, 1870, Bd. 15, S. 1.
72. Ruge, Einige Beiträge zur Lehre von der Tuberkulose. Inaug.-Diss. Berlin 1869.
73. Klein, The anatomy of the lymphatic system. The lung. London 1875.
74. Friedländer, Exp. Unters. über chron. Pneumonie und Lungenschwindsucht. Virch. Arch., Bd. 68, 1876.
75. Schottelius, Exp. Unters. über Wirkung inhalierter Substanzen. Virch. Arch., Bd. 73, 1878.
76. Frankenhäuser, Unters. über den Bau der Tracheobronchialschleimhaut. Inaug.-Diss. Dorpat. 1879 (71—76 zit. nach Arnold).
77. Arnold, Über das Vorkommen lymphatischen Gewebes in den Lungen. Virch. Arch. 1880, Bd. 80, H. 2, S. 315.
78. Lüders, Über das Vorkommen von subpleuralen Lymphdrüsen. Inaug.-Diss, Kiel 1892.
79. Ribbert, Über die Genese der Lungentuberkulose. Dtsch. med. W., 1902, Nr. 17, S. 301.

80. Sawada. Zur Kenntnis der hämatogenen Miliartuberkulose der Lungen. Dtsch. Arch. f. kl. Med., 1903, Bd. 76, S. 343.

81. Bartel, Die Infektionswege bei der Fütternngstnberkulose. Wiener kl. W., 1904, Nr. 15.

82. Bartel, Der gleiche Titel. Wiener kl. W., 1905, Nr. 7.

83. Bartel und Spieler, Der Gang der natürlichen Tuberknloseinfektion beim jungen Meerschweineben. Wiener kl. W., 1905, Nr. 9.

87. Weichselbaum und Bartel, Zur Frage der Latenz der Tuberkulose. Wiener k. W., 1905, Nr. 10.

85. Bartel und Stein, Zur Biologie schwach virulenter Tuberkelbazillen. Zentralbl. f. Bakt. 1905, Bd. 38, H. 2—4.

86. Manfredi und Viola, Der Einflufs der Lymphdrüsen bei der Erzeugung der Immunität gegen ansteckende Krankheiten. Ztschr. f. Hyg. 1899, Bd. 30, S. 64.

87. Jousset, L'inoscopie. Semaine médicale, 1903, 21. janvier.

88. Jousset, L'inoscopie. Arch. de méd. exp. et d'anat. pathol. 1903, Nr. 2, Mars.

89. Beitzke, Über Untersuchungen an Kindern in Rücksicht auf die von Behringsche Tuberkulose-Infektionstheorie. Berl. kl. W., 1905, Nr. 2, S. 33.

90. Zumstein, (zitiert bei Sawada, Nr. 80.)

91. Zangger, Über die Funktionen des Kolloidzustandes bei den Immunkörperreaktionen. Zusammenf. Übersicht. Zentralbl. f. Bakt. Referate, Bd 36, Nr. 6 ff., S. 161 etc.

92. Métalnikoff, Über hämolyt Serum durch Blutfütterung. Zentralbl. f. Bakt., Bd. 29, 1901.

93. Sachs, Die Hämolysine nnd ihre Bedeutung für die Immunitätslehre. Sonderabdr. aus Lubarsch-Ostertags Ergebnissen etc. Wiesbaden, Bergmann 1902

94. Cantacuzène, Sur les variations quantitatives et qualitatives des globules rouges provoquées chez le lapin par les injections de sérum hémolytique. Ann. de l'Inst. Pasteur. 1900, T. 14. S. 378.

95. Ascoli, Über den Mechanismus der Albnminnrie durch Eiereiweifs., Münchn. med. W., 1902, Nr. 10, S. 398.

96. Uhlenhuth, Neuer Beitrag zum spezifischen Nachweis von Eiereiweifs auf biologischem Wege. Dtsch. med. W., 1900, Nr. 46, S. 734.

97. Michaelis und Oppenheimer, Über Immunität gegen Eiweifskörper. Arch. f. Anat. u. Physiol., 1902, Snppl.-Bd., 2. Hälfte.

98. v. Behring, Säuglingsmileb, Woche, 1904, H. 2.

99. Gerber nnd Wieske, Flaschen-Pasteurisation im Grofsbetriebe (Schüttel-Pasteurisation). Molkerei-Zeitung, Separatabdruck (ohne Angabe von Jahreszahl nnd Nummer).

100. Hippius, Biologisches zur Milchpasteurisierung. Jahrb. f. Kinderheilk. III. F., Bd 11, H. 2, S. 365.

101. Dieudonné, Schutzimpfung und Serumtherapie. Leipzig 1900, Barth. II. Aufl. (III. Aufl. 1903 unter d. Titel »Immnnität, Schntzimpfung und Serumtherapie«.

102. L. Michaelis, Weitere Untersuchungen über Eiweifs-Präcipitine. Dtsch. med. W., 1904, Nr. 34, S. 1240.
103. Rostoski, Zur Kenntnis der Präzipitine. Verhandl. d. phys. med. Ges. zu Würzburg, 1902, Stuber, S. 15.
104. Neumeister, Lehrbuch der physiol. Chemie etc. Jena 1897. Fischer.
105. Gürber und Hallaner, Über Eiweifsausscheidung durch die Galle. Zeitschr. f. Biol., 1904, Bd. 45, S. 372.
106. Salkowski, Praktikum der physiol. u. pathol. Chemie. Berlin 1893. Hirschwald.
107. P. Th. Müller, Weitere Studien über die Fällung des Kaseins durch Lab und Laktoserum. Zentralbl. f. Bakt., 1902, Bd. 32, S. 521.
108. Hamburger, Artelgenheit und Assimilation, Leipzig u. Wien 1903, Deuticke (S. 44).
109. Obermeyer und Pick, Biologisch-chemische Studie über das Eierklar. Wien. klin. Rundschau, 1902, Nr. 15.
110. Moro, zitiert nach Hamburger (111).
111. Hamburger, Biologisches zur Säuglingsernährung. Wiener med. W., 1904, Nr. 5, S. 217.
112. Pawlow, Die Arbeit der Verdauungsdrüsen. Wiesbaden 1898.
113. Hammarsten, Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 7, S. 227; zitiert nach Czerny-Keller (119).
114. Söldner, Die Salze der Milch. Inaug.-Diss., Erlangen 1888.
115. Escherich, Beiträge zur Frage der künstlichen Ernährung. Jahrb. f. Kinderheilk., 1891, Bd. 32, S. 1.
116. Courant, Über die Reaktion der Kuh- und Frauenmilch. Inaug.-Diss., Breslau 1891.
117. Arthur und Pages, Arch. de physiol., 1890, Bd. 2, p. 331; zitiert n. Czerny-Keller (119).
118. Oppenheimer, Die Fermente. Leipzig 1900. Vogel.
119. Czerny und Keller, Des Kindes Ernährung. Ernährungsstörungen und Ernährungstherapie. Leipzig u. Wien 1901 u. folg. Jahre. Deuticke.
120. Schlofsmann, Über die Giftwirkung des artfremden Eiweifses in der Milch etc. Arch. f. Kinderheilk., 1905, Bd. 41, H. 1—2, S. 99.
121. Hamburger und Sperk, Biologische Untersuchungen über Eiweifsresorption vom Darm aus. Wiener klin. W., 1904, Nr. 23.
122. Moro, Biologische Beziehungen zwischen Milch und Serum. Vortrag. Hamburger Naturforscher- u. Ärzteversammlung 1901. (Verhandl. der Ges. f. Kinderheilkunde, Wiesbaden. Bergmann, 1902.)
123. Schlofsmann, Diskussion zu obigem Vortrag.
124. Moro, Über die Fermente der Milch. Jahrb. f. Kinderheilk., 1902, Bd. 56, S. 391.
125. Hamburger und Moro, Über eine neue Reaktion der Menschenmilch. Wiener klin. W., 1902, Nr. 5, S. 121.
126. Bernheim-Karrer, Untersuchungen über das Fibrinferment der Milch. Zentralbl. f. Bakt., Bd. 31, 1902, Nr. 9.

Digitized by Google

127. Ganghofner und Langer, Über die Resorption genuiner Eiweifskörper im Magendarmkanal neugeborener Tiere nnd Säuglinge. Münchn. med. W., 1904, Nr. 34, S. 1497.

128. Ransom, Beschreibung des Fohlenversuchs durch v. Behring, zitiert bei Römer(2).

129. Polano, Experim. Beiträge zur Biologie der Schwangerschaft. Habil.-Schrift, Würzburg 1904, Stürtz.

130. Marx, Die Bestimmung kleinster Mengen Diphtherie-Antitoxins. Zentralbl. f. Bakt., Bd. 36, S. 141.

131. Siegert, Referat der Salgeschen Arbeit (136) im Münchn. med. W., 1904.

132. Pharmazeutische Produkte der Farbwerke vorm. Meister Lucius & Brüning, 1903.

133. Römer, Zur Frage des physiol. Stoffaustausches zwischen Mutter und Fötus. Zeitschr. f. diätet. u. physik. Therapie, Bd. 8, H. 2, S. 97.

134. Polano, Der Antitoxinübergang von der Mutter auf das Kind. Ein Beitrag zur Physiologie der Placenta. Zeitschr. f. Geburtsh. u. Gynäkol., Bd. 53, H. 3.

135. Römer, Weitere Studien zur Frage der intrauterinen und extrauterinen Antitoxinübertragung von der Mutter auf ihre Nachkommen. Behrings Beiträge etc., H. 8. Hirschwald, 1905.

136. Salge, Über den Durchtritt von Antitoxin durch die Darmwand des menschlichen Säuglings. Jahrb. f. Kinderheilk., III. F., Bd. 10, 1904, H. 1.

137. Salge, Immunisierung durch Milch. Jahrb. f. Kinderheilk., III. F., Bd. II, 1905, H. 3.

138. Jakob, Über die Bedeutung der Lungeninfusionen für die Diagnose nnd Therapie der Lungentuberknlose. Dtsch. med. W., 1904, Nr. 26, S. 945 etc.

139. Flcker, Über die Keimdichte der normalen Schleimhaut des Intestinaltraktus. Arch. f. Hyg., 1905, Bd. 52, S. 179.

140. Klimenko, Durchgängigkeit der Darmwand für Mikroorganismen. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr., B. 48, S. 67.

141. Emmerich nnd Gemünd, Beiträge zur experim. Begründung der Pettenkoferschen lokalistischen Cholera- nnd Typhuslehre. Münchn. med. W., 1904, Nr. 25, S. 1089.

142. Ficker, Über die Aufnahme von Bakterien durch den Respirationsapparat. Arch. f. Hyg., 1905, Bd. 53, H. 1, S. 50.

143. Gmelin, Untersuchungen über die Magenverdauung neugeborener Hunde. Pflüg. Arch., Bd. 90, S. 591.

144. Gmelin, Zur Magensaftsekretion neugeborener Hunde. Pflüg. Arch., Bd. 103, S. 618.

145. Cohnheim nnd Soetbeer, Die Magensaftsekretion des Neugeborenen. Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 37, S. 467.

146. Seiffert, Die Versorgung der grofsen Städte mit Kindermilch. I. Teil, Leipzig 1904. Weigel (S. 84).

147. Voit und Bauer, Über die Aufsaugung im Dick- und Dünndarme. Zeitschr. f. Biol., 1869, Bd. 5, S. 536.
148. Hoppe-Seyler, Physiologische Chemie, 1877, Bd. 1, S. 348.
149. Heidenhain, Beiträge zur Histologie und Physiologie der Dünndarmschleimhaut. Pflügers Arch., 1888, Bd. 43, Snppl., S. 63.
150. Heidenhain, Neue Versuche über die Aufsaugung im Dünndarm. Pflügers Arch., 1894, Bd. 56, S. 584.
151. Oppenheimer, Toxine und Antitoxine. Jena 1904. Fischer.
152. Chassin et Moussu, Influence de la dialyse etc. Soc. Biol, 1900. Bd. 52, p. 694; zit. nach Oppenheimer.
153. Nencki und Schoumow-Simanowski, Die Entgiftung der Toxine durch die Verdauungssäftc. Zentralbl. f. Bakt., 1898, Bd. 23, S. 840.
154. Ransom, Das Schicksal des Tetanusgiftes nach seiner intestinalen Einverleibung. Dtsch. med. W., 1898, S. 117.
155a. Repin, Annales de l'Inst. Pasteur, 1895, Bd. 9, S. 517.
155b. Carrière, Soc. Biol., 1899, Bd. 51, S. 179, beide zitiert nach Oppenheimer.
156. Schütz, Zur Kenntnis der natürlichen Immunität des Kindes im ersten Lebensjahre. Jahrb. f. Kinderheilk., III. F., Bd. 11, S. 122.
157. Schmidlechner, Übergang der Toxine von der Mutter auf die Frucht. Ztschr. f. Geburtsh. u. Gynäk., Bd. 52, H. 3.
158. Disse, Untersuchungen über die Durchgängigkeit der jugendl. Darmwand für Tuberkelbazillen. Berl. kl. W., 1903, Bd. 40, S. 4.
159. Reyher, Über die Ausdehnung der Schleimbildung in den Magenepithelien des Menschen vor und nach der Geburt. Jahrb. f. Kinderheilk., III. F., Bd. 10, H. 1, S. 16.
160. Benda, Diskussionsbemerkung zum Vortrag Westenhöffers (55). Ref. Berl. kl. W., 1904, Nr. 9, S. 232.
161. Toldt, Die Entwicklung und Ausbildung der Drüsen des Magens. Sitzungsber. der k. k. Akad. d. Wissensch. math.-natnrw. Kl., Bd. 82, S. 57.
162. Fischl, Beiträge zur normalen und pathologischen Histologie des Säuglingsmagens. Zeitschr. f. Heilkunde, 1891, Bd. 12.
163. Schmidt, A., Unters. über das menschl. Magenepithel unter normalen und pathol. Verhältnissen. Virch. Arch., 1896, Bd. 143, S. 483.
164. Sacerdotti, Über die Entwicklung der Schleimzellen des Magendarmkanales. Intern. Monatsschr. f. Anat. u. Physiol., 1894, Bd. 11, S. 501.

## Erklärung der auf der Tafel befindlichen Figuren:

Fig. 1. Typische Knötchenlunge (Meerschweinchen). Gröfse $^1/_1$ Kayserling-Präparat.

Fig. 2. Schnitt durch eine normale Lunge. Lupenvergröfserung 5 : 1.

Fig. 4. Der gleiche Schnitt. Stärkere Vergröfserung (Leitz Obj. 3, abgeschr. Okul. 1, gezeichnet in Objekttischhöhe).

Fig. 3. Schnitt durch eine Knötchenlunge. Lupenvergröfserung 7 : 1.

Fig. 5. Der gleiche Schnitt. Stärkere Vergröfserung (genau wie Fig. 4).

Fig. 6. Sehr grofses Lymphknötchen aus einer normalen Lunge. (Leitz, Öl-Immers. Okul. 1. T. 16. Bod.)

Fig. 7. Teil eines Knötchens aus einer typischen »Knötchenlunge« (gleiche Vergröfserung wie Fig. 6). Die Gröfse des ganzen Knötchens geht aus der beigegebenen Skizze hervor, in die der Ausschnitt mit Strichen eingezeichnet ist.

Lebhafte Kernteilungen; viele grofse, chromatinarme »aufgeblasene« Zellen.

# Reagentien und Versuchsmethoden zum Studium der proteolytischen und gelatinolytischen Enzyme.

Von

Prof. **Claudio Fermi.**

(Hygienisches Institut der kgl. Universität Sassari [Sardinien].)

## Übersicht der Arbeit.

I. Einleitung.
II. Methode der festen Gelatineröhrchen.
A. Einfluſs der Konzentration der Gelatine auf die Empfindlichkeit der Gelatine selbst den Enzymen gegenüber.
B. Einfluſs der Alkalien und der Temperatur.
C. Über die Mittel, um den Kontakt des Enzymes mit der Gelatine zu begünstigen.
D. Einfluſs der Entfernung der sich nach und nach verflüssigenden Gelatine auf die Geschwindigkeit der Gelatinolyse.
E. Einfluſs der Kontakterneuerung zwischen Enzym und Gelatine auf den Verlauf der Gelatinolyse.
F. Auſserordentliche, mittels der Methode der festen Gelatineröhrchen, erlangte Empfindsamkeit.
G. Über die schnelle Zerstörung der Tätigkeit des Trypsins in stark verdünnten Lösungen.
H. Über die von Mette und Linossier vorgenommene Abänderung meiner Methode der festen Gelatine.
III. Methode der festen Gelatineplatten.
IV. Methode der Fixierung und Extraktion der proteolyt. Enzyme mittels Fibrin.
V. Methode der flüssigen Gelatineröhrchen.
VI. Methode der alkalischen Albuminate als neue Reagentia der proteolytischen Enzyme.
VII. Die Empfindsamkeit der gleichzeitig studierten Gelatine, des Fibrins, des einfachen oder verdünnten oder mit Ammoniak bereiteten Blutserums, des Kaseins, des Eiereiweifses.
VIII. Über die Möglichkeit der quantitativen Bestimmung der proteolyt. Enzyme.

## I. Einleitung.

Das Fibrin[1]) als Reagens im Aufsuchen der proteolytischen Enzyme läfst in bezug auf die Empfindlichkeit und die Gewifsheit viel zu wünschen übrig. Wenn dasselbe auch dienen kann zur Konstatierung energischer Enzyme, welche besonders in der Anwesenheit von Säuren tätig sind, wie z. B. das Pepsin, so ist dies doch nicht der Fall bei den schwachen proteolytischen Enzymen, die ihre Tätigkeit besonders bei alkalischer Reaktion bekunden. Der gröfste Teil der sowohl im Tierreiche wie im Pflanzenreiche so stark verbreiteten gelatinolytischen Enzyme kann nicht immer mit Hilfe des Fibrins mit Gewifsheit nachgewiesen werden. Dasselbe kann man vom Trypsin selbst sagen, wenn es sich nur in Spuren befindet oder wenn seine Tätigkeit bedeutend geschwächt ist. Die beiden Kriterien, aus denen man schliefsen kann, ob ein proteolytisches Enzym auf das Fibrin eingewirkt hat, sind bekanntlich die Auflösung desselben und seine Verwandlung in Pepton. Nun geschieht es aber häufig, dafs einerseits das der Wirkung dieses Fermentes unterworfene Fibrin sich ganz und gar nicht auflöst oder nur höchst unvollständig und anderseits, dafs die Probe keine glaubwürdige Reaktion gibt.

Dafs das Fibrin kein sehr sicheres Reagens ist, geht übrigens auch deutlich aus den Ungewifsheiten und Widersprüchen hervor, auf die man in den zahlreichen Bearbeitungen dieser Frage stöfst, was ich selbst Gelegenheit hatte festzustellen. Von den übrigen Reagentien der Enzyme, wie vom gesottenen Eier-Eiweifs (Methode Mette), Kasein, Milch, Blutserum zu sprechen, halte ich für überflüssig; diese stehen, wie wir sehen werden, dem Fibrin selbst nach. Die Gelatine bildet hingegen ein aufsergewöhnlich empfindliches und sicheres Reagens, weil sie in Berührung mit einem gelatinolytischen Enzyme sich verflüssigt, wenn sie fest ist, und, wenn sie flüssig ist, nicht mehr erstarrt.[1])

1) La Gelatina come reagente m. Arch. per le scienze med. Vol. XVI, N. 8, 1892.

Obwohl meine drei alten Methoden, die proteolytischen Enzyme aufzusuchen, an Empfindlichkeit alle bisher bekannten übersteigen und zwar so, dafs man in der Lage ist, mit jener der festen Gelatineröhrchen mit Sicherheit das bis auf 1:40000 verdünnte Trypsin nachzuweisen und somit achtmal die Empfindlichkeit des Fibrins übertrifft, versuchte ich dennoch, sie zu verbessern und neue aufzusuchen.

### II. Methode der festen Gelatineröhrchen.

a) Zubereitung der Gelatine. Man löst warm 2, 5, 10 oder 20 g[1]) reiner Gelatine (sog. goldene Gelatine) in 100 ccm einer wässerigen 1‰ Thymol- oder 5‰ Karbolsäurelösung auf.

Ein besonders anhaltendes Kochen der Gelatine ist stets zu vermeiden, da dieses die Erstarrungsfähigkeit derselben schwächt. Man erhält eine neutrale Gelatine, indem man sie neutralisiert, eine alkalische beim Hinzufügen von Soda (1—2‰) und eine saure, indem man Mineralsäuren zu 1—5‰ oder organische Säuren (5—10‰) hinzufügt.

b) Zubereitung und Gebrauch der Gelatineröhrchen. In kleinen Röhrchen von 5—6 mm Durchmesser verteilt man die Gelatine im Verhältnis von 1 ccm pro Röhrchen; man bringt sie in eine genaue vertikale Lage, innerhalb eines mit kaltem Wasser angefüllten Behälters, damit die Gelatine regelmäfsig erstarrt. Man bewahrt dann diese Röhrchen, umgekehrt, in einem Wasser enthaltenden Gefäfse, um das Austrocknen der Gelatine zu vermeiden.

Um eine Forschung anzustellen, verfahre man wie folgt:

1. Man nimmt aus dem Gefäfse die nötige Anzahl von Röhrchen.
2. Trocknet dieselben ab.
3. Versieht sie der Länge nach mit einem Papierstreifen, der genau die freie Oberfläche der Gelatine anzeigend, bis zum Boden des Röhrchens reicht. Dieser Streifen dient zum Aufzeichnen mit einer Feder und in regelmäfsigen Zwischenräumen, z. B. alle 24 Stunden der aufgelösten Gelatineschicht, wie auch des Datums und anderer notwendigen Bemerkungen.

1) Je nach der Temperatur, bei welcher man arbeitet.

Digitized by Google

4. Man gieſst 0,5—1 ccm von der zu untersuchenden Flüssigkeit, die 5‰ Karbolsäure oder 1‰ Thymol enthält, in die Röhrcheu, um zu vermeiden, daſs die Verflüssigung der Gelatine infolge der proteolytischen Euzyme, die sich aus den während des Versuches entwickelten Keimen absondern, vor sich gehe.

5. Die Proben hält man in einer gleichmäſsigen Temperatur, indem man sie in einen Thermostat auf 20—22° bringt, jedoch darf die Gelatinekonzentration nicht unter 2% sein. Ist die Zimmertemperatur nicht unter 12° und glaubt man, daſs die täglichen Wechsel den Verlauf der Forschungen nicht stören können, so kann man sie auch aufserhalb des Thermostaten lassen. Sowohl in dem eiuen Falle wie im anderen vermeide man natürlich die Temperaturen, die den Verflüssigungspunkt der Gelatine in der gebrauchten Konzentration übersteigen.

6. Weder der zu untersuchenden Gelatine noch den Flüssigkeiten dürfen jene Substanzen (antiseptische oder andere) hinzugefügt werden, welche von selbst die Gelatine auflösen könnten, wie z. B. die Säuren und die Alkalien in gewissen Konzentrationen.

7. Man vermeide auch jene Substanzen, welche die Empfindlichkeit der Gelatine vermindern könnten, wie z. B. aus meinen Versuchen sich die Phosphorwolframsäure, das Sublimat, das Zinkchlorür, das Cadmiumchlorür, das Eisenchlorür, das Bleiacetat, das Kupferacetat, das Kupfersulfat, das Zinksulfat, das Alaun, das salpetersaure Wismuth, das hypermangansaure Kali, das Tannin, das Glyzerin usw. ergebeu haben.

8. Es ist ratsam, die Flüssigkeiten, in denen man das Enzym aufsuchen will, zu filtrieren, wenn es möglich ist und sie nicht darunter leiden, denn die schwebenden Substanzen können, wenn sie auf die Gelatine präzipitieren, die Verflüssigung weniger regelmäfsig vor sich gehen lassen,

Die eingeführten Änderungen, um die Empfindlichkeit dieser Methode aufs äufserste zu treiben, beruhen auf:

A. Einflufs der Gelatinekonzentration,

B. Einflufs der Alkalien und der Temperatur,

C. Einfluſs der Steigerung des Kontaktes des Enzyms mit der Gelatine,

D. Einfluſs der Entfernung von Verdauungsprodukten, d. h. der verflüssigten Gelatine,

E. Einfluſs des Ruhezustandes oder der Bewegung der Enzyme enthaltenden Flüssigkeit.

### A. Einfluſs der Gelatinekonzentration.

Um den Einfluſs der Gelatinekonzentration auf die Empfindlichkeit derselben zu studieren, goſs ich 1 ccm 1‰ Merksches Trypsin in Röhrchen, welche 3, 5, 10, 20, 30% Gelatine und 2% Natronkarbonat enthielten, und brachte die Probe in eine Temperatur von 20°.

Die erhaltenen Resultate befinden sich in folgender Tabelle:

| Konzentration der Gelatine | Verflüssigte Gelatineschicht in | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 Tag | 2 Tg. | 3 Tg. | 34 Tg. | 37 Tg. | 44 Tg. | 46 Tg. | 47 Tg. |
| | mm | mm | mm | mm | mm | mm | mm | mm |
| Gelatine 3% . . | 3 | 6 | 10 | — | — | — | — | — |
| Gelatine 5% . . | 1 | 3 | 5 | 29 | 32 | 36 | 38 | 41 |
| Gelatine 10% . . | 0 | 2 | 4 | 20 | 22 | 25½ | 27½ | 29 |
| Gelatine 20% . . | 0 | 0 | 2 | 12 | 13 | — | 15½ | 17 |
| Gelatine 30% . . | 0 | 0 | 0 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |

Resultat: Dieser Tabelle entnimmt man also:

1. Die 3proz. Gelatine zeigt sich in diesem Versuche zehnmal empfindlicher als die 30proz., dreimal empfindlicher als die 20proz. und zweimal empfindlicher als die 5proz.

2. Die 10proz. Gelatine zeigt sich zehnmal empfindlicher als die 30proz. und fast zweimal als die 20proz.

3. Die Empfindlichkeit der 20proz. Gelatine ist fast doppelt so stark als jene der 30proz.

Der hieraus folgende Schlufs ist, dafs die Empfindlichkeit der Gelatine in entgegengesetztem Verhältnisse zu ihrer Konzentration steht.

4. Aus diesem Versuche ergibt sich ebenfalls, dafs, bevor man das Vorhandensein eines gelatinolytischen Enzymes bei der Anwendung von 10—20 oder 30proz. Gelatine ausschliefst, man wohl tut, einige Tage abzuwarten. In der Tat zeigt diese Tabelle, dafs, während die 3proz. Gelatine innerhalb 24 Stunden schon 3 mm aufgelöst hatte, die 10proz. in derselben Zeit ein negatives Resultat gegeben, die 20proz. noch keine Spur von Verflüssigung nach 48 Stunden und die 30proz. nach 3 Tagen aufgewiesen hatten.

5. Die 30proz. Gelatine ist äufserst wenig empfindlich und ist daher von ähnlichen Forschungen auszuschliefsen; die 10proz. wie auch jene 20proz. kann man anwenden, wenn die Temperatur 25° übersteigt.

6. Die 5proz. und die 3proz. Gelatine sind hingegen die empfindlichsten unter den in diesen Versuchen angewendeten Konzentrationen.

### B. Einfluſs der Alkalien und der Temperatur.

Um die Empfindlichkeit der Gelatine in den Forschungen nach den gelatinolytischen Enzymen, d. h. um die Verflüssigungsfähigkeit zu vermehren, versuchte ich mehrere Substanzen, von denen am besten die Alkalien und besonders das kohlensaure Natron entsprachen.

Ich führe hier einige in dieser Beziehung angestellte Versuche an.

#### a) Kohlensaures Natron.

**Versuch I.**

Röhrchen von einem Kaliber von 6 mm, welche 1 ccm 5proz. flüssiger Gelatine enthielten, fügte ich verschiedene Quantitäten einer 20proz. kohlensaueren Natronlösung hinzu, um einen verschiedenen Prozentsatz zu haben; ich schüttelte die Röhrchen, liefs die Gelatine sich erstarren und gofs in dieselben 0,25 ccm 1‰ Trypsin.

Das erhaltene Resultat war:

| Kohlensaueres Natron | Verflüssigte Schicht in Tagen | | |
|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 8 |
| | mm | mm | mm |
| 1,818 % | 1 | 3 | 35 |
| 3,333 % | 2 | 4 | 50 |
| 4,615 % | 2 | 4 | 65 |
| 5,714 % | 1,5 | — | 65 |
| Kontrolle ohne Natron | 0 | 1,5 | 17 |

**Versuch II.**

Ich wiederholte den Versuch und erhielt folgende Resultate:

| Kohlensaueres Natron | Verflüssigte Schicht nach Tagen | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 12 | 36 |
| | mm | mm | mm | mm | mm |
| 0,95 % | 0,5 | 2 | 3 | 8 | 20 |
| 1,818 % | 1 | 2,5 | 3,5 | 9 | 21,5 |
| 3,333 % | 0.75 | 2,5 | 3,5 | 9 | 20 |
| 4,615 % | 0,5 | 2 | 3 | 9 | 26,5 |
| 5,714 % | 0 | 2,75 | 3,5 | 9,5 | 20 |
| 6,666 % | 0 | 2,5 | 3,5 | 9 | 20 |
| Kontrolle ohne Natron | 0 | 0,5 | 1,5 | 6,5 | 19 |

Resultat: Aus diesen zwei Versuchen ergibt sich, dafs die Gelatine, welche das kohlensaure Natron im Verhältnisse von 1—7 % besitzt, etwa drei- bis fünfmal so empfindlich ist als die Neutrale. Der Unterschied ist bedeutender am Anfange des Versuches (1. und 2. Tag) als in der Folge.

**Versuch III.**

b) Die Konzentration, der Alkaligehalt und die Temperaturhöhe, gleichzeitig an der Empfindlichkeit der Gelatine studiert.

Um den vorhergehenden Versuch zu wiederholen, und um gleichzeitig die verschiedenen Bedingungen zu studieren, die auf die Verflüssigungsfähigkeit der Gelatine einwirken, unternahm ich den Versuch auf folgende Weise.

Ich nahm Röhrchen von 30 cm Länge und von einem Kaliber von 6 mm, füllte sie mit Gelatine von verschiedener Konzentration und verschiedenem Alkaligehalt, nachdem diese erstarrt waren gofs ich in sämtliche Röhrchen 1 ccm Trypsin Merk zu 1 ‰.

Hierauf brachte ich einen Teil der Röhrchen in 30°, einen anderen Teil in 20°, einen dritten Teil liefs ich in der Zimmertemperatur, welche zwischen 12—16° schwankte. Um sowohl das Verfliegen der Trypsinlösung als auch das Vertrocknen der Gelatine zu verhindern, verschlofs ich sämtliche Röhrchen mit Paraffin. Der luftdichte Verschlufs bietet noch den Vorteil, die Röhrchen notwendigenfalls ohne Gefahr umstürzen zu können. Man stürzt manchmal dieselben um, damit man besser die Grenze der aufgelösten Gelatineschicht wahrnehmen kann.

Alle sieben Tage die aufgelöste Gelatineschicht messend, erhielt ich die Resultate, die ich in nachfolgender Tabelle wiedergebe.

| Konzentration und Sodagehalt der Gelatine und Versuchstemperatur | | | Gelatinemenge aufgelöst in Tagen | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 7 | 14 | 21 | 28 | 35 | 42 | 49 | 56 | 63 | 70 | 77 | 84 |
| | | | mm | mm | mm | mm | mm | mm | mm | mm | mm | mm | mm | mm |
| Gelatine 30% | Soda 2% | auf 30° | 10 | 16 | 24 | 36 | 49 | 51 | 60 | 68 | 74 | 80 | — | — |
| | | » 20° | 4 | 7 | 9 | 12 | 14 | 16 | 18 | 20 | 21½ | — | — | — |
| | | R. 12—16° | — | — | 1½ | 2½ | — | 4 | — | 6 | 7½ | 10 | — | — |
| | neutr. | auf 30° | 3 | 8 | 13 | 18 | 27 | 39 | 48 | 56 | 65 | 75 | — | — |
| | | » 20° | 0 | 0 | 0 | 1 | — | — | 4 | — | — | 5 | 6 | — |
| | | R. 12—16° | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | ½ | — | — |
| Gelatine 20% | Soda 2% | auf 20° | 7½ | 12 | 15 | 17 | 21 | 22½ | 27 | 28 | 31 | 33½ | 36 | — |
| | | R. 12—16° | 0 | 2½ | — | 6 | 8 | 9½ | 11 | — | 14½ | 17½ | 20 | — |
| | neutr. | auf 20° | — | 5 | 10 | 14 | 16½ | 21 | 25 | 31 | — | — | — | — |
| | | R. 12—16° | ½ | 1 | 2¼ | 5 | — | — | 4 | — | 7 | 8 | 9 | — |
| Gelatine 10% | Soda 2% 12—16° | | — | 6 | 10 | 14 | 16½ | 18½ | 21½ | 23 | 26½ | 29½ | 33 | — |
| | neutr. | auf 20° | 11 | 21 | 24 | 29½ | 33½ | 39 | 44 | 48½ | 51½ | 55 | 59 | — |
| | | R. 12—16° | — | 2½ | 3½ | 5 | — | 6½ | 7½ | — | 11 | 13½ | 15½ | — |
| Gelatine 5% | Soda 2% | auf 20° | 16 | 28 | 32½ | 37 | 41½ | — | 52 | 57½ | 60 | 64½ | 68 | — |
| | | R. 12—16° | — | 9½ | 14½ | 17½ | 21 | 23½ | 27 | 30 | 34 | 38 | 42 | — |
| | neutr. | auf 20° | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | R. 12—16° | — | — | 14 | 19 | 24 | 28 | 32 | 37 | 45 | — | — | — |
| Gelatine 3% | Soda 2% t 20° | | 28 | 43 | 47 | 65 | 76½ | 79½ | 86½ | 92½ | 104 | 110 | 120 | — |
| | » 2% t 12—16° | | — | 18 | 25 | 30½ | 35 | 39½ | 43 | 47 | 53 | 58 | 63 | — |
| | » 3% t 12—16° | | — | 13 | 18½ | 23½ | 26½ | 29 | 32 | 35 | 40 | 43½ | 48 | — |
| | » 4% t 12—16° | | — | 12½ | 13½ | 24 | 27 | 32 | 34 | 36 | 38 | 43 | 49 | — |
| | neutr. | auf 20° | 32½ | 33½ | 57 | 60 | 72 | 76 | 78 | 84 | 90 | 95½ | 102 | — |
| | | R. 12—16° | — | 5½ | 8½ | 14 | 17 | 20 | 23 | 26½ | 32 | 37 | 42 | — |
| Gelatine 2½% | Soda 1% t 12—16° | | — | 16 | 25 | 32 | 37½ | 42½ | 46 | 51 | 57½ | 62½ | 68 | — |
| | » 2% t 12—16° | | — | 5 | 10 | 19 | 25 | 31 | 37½ | 45 | 56 | 66 | 77 | — |
| Gelatine 2% | Soda 1% t 12—16° | | — | 12 | 20 | 27 | 32 | 36 | 41 | 46 | 52 | 57 | 64 | — |
| | » 2% t 12—16° | | — | 21 | 31 | 40 | 46 | 50 | 55 | 60 | 66 | 77 | 98 | — |

Dieser Tabelle entnehmen wir der Bequemlichkeit halber folgende Übersichtstabelle:

| Konzentration der Gelatine | | alkalisch | | neutral | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 20° | 14° | 20° | 14° |
| 20 % | 30 % | 1 mal | 1 mal | 9½ mal | 15 mal |
| 10 % | | 3 » | 8 » | 10 » | 25 » |
| 5 % | | 3 » | 9 » | | |
| 3 % | | 4 » | 12 » | 28 » | 73 » |
| 10 % | 20 % | | 1½ » | | 1 » |
| 5 % | | 1 » | 1½ » | | 5 » |
| 3 % | | 1 » | 3½ » | 4 » | 4 » |
| 5 % | 10 % | | ½ » | 1 » | 2 » |
| 3 % | | | | 1 » | 1½ » |

**Gelatinekonzentration.**

| Temperatur | 30 % | | 20 % | | 3 % | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | alkalisch | neutral | alkalisch | neutral | alkalisch | neutral |
| Von 30°—20° | 1¾ mal | 14 mal | | | | |
| 30° | 12 » | 149 » | | | | |
| 20° | 3 » | 9 » | 1¾ mal | 3½ mal | 1 mal | 3½ mal |

Resultat: Aus der vorstehenden Tabelle geht folgendes hervor:

1. Die Verflüssigungsfähigkeit der Gelatine steht in einem entgegengesetzten Verhältnisse zu ihrer Konzentration.

2. Die Verschiedenheit in der Verflüssigungsfähigkeit der verschiedenen Gelatinekonzentrationen sind gröfser bei der neutralen Gelatine als bei der alkalischen, ebenso beim Aufbewahren der Proben in einer Temperatur von 14° als in jener von 20°. Mit einem Worte, die in Rede stehende Verschiedenheit steigt mit der Verminderung der der Verflüssigungsfähigkeit der Gelatine günstigen Bedingungen.

Dieses zeigen deutlich folgende Aufgaben:

a) Die Verflüssigungsfähigkeit der Gelatine zu 20% ist doppelt so stark als die zu 30% bei der alkali-

schen Gelatine, während bei der neutralen Gelatine der Unterschied 9½ ist bei 20° und 20mal bei 14°.

b) Die 10proz. Gelatine übertrifft die 30proz., und zwar dreimal bei 20° und achtmal bei 14°, wenn sie alkalisch ist; zehnmal hingegen bei 20°, und 25mal bei 14°, wenn sie neutral ist.

c) Die 5proz. Gelatine übertrifft jene zu 30% bei einer Temperatur von 20°, um dann auf 9 zu steigen bei 14° (alkalische Gelatine).

d) Die 3proz. Gelatine übertrifft jene zu 30%, wenn sie alkalisch ist, 4mal bei 20°, und 12mal bei 14°; ist sie neutral, 28mal bei 20° und 73mal bei 14°.

e) Die 10proz. Gelatine übertrifft jene zu 20%, wenn sie alkalisch ist 1mal bei 20° und 1½ bei 14°, um dann mit der neutralen auf 5mal zu steigen bei 14° usw.

Wer den Unterschied in der Verflüssigungsfähigkeit in bezug auf die übrigen Konzentrationen sehen will, braucht nur die obenstehende Übersichtstabelle zu sehen.

3. Was den Einflufs der Temperatur auf die Verflüssigungsfähigkeit der Gelatine in den verschiedenen Konzentrationen betrifft, so ergibt sich folgendes:

a) Der Unterschied in der Verflüssigungsfähigkeit bei 30°—20° ist 1¾mal für die 30proz. alkalische Gelatine, und 14mal für die neutrale bei 30°—14°; er steigt hingegen bis auf 12mal bei der alkalischen und auf 149mal bei der neutralen.

b) Von 20°—14° ist er für die 30proz. alkalische Gelatine 3mal und für die neutrale 9mal; bei der 30proz. Gelatine ist er 1¾mal für die alkalische und 3½mal für die neutrale; bei ersterer bei 3% ist er 1mal für die alkalische und 3¼mal für die neutrale.

4. Aufserdem führen wir an, dafs die in Rede stehenden Unterschiede regelmäfsig abnehmen, je mehr sie sich vom Anfang des Versuches entfernen.

Einige Beispiele sind:

1. Der Unterschied zwischen der Gelatine zu 3% und jener alkalischen zu 30% ist bei 16° anfangs 8mal so grofs und fällt dann auf 5—3—2½ und kommt bis auf 2.

2. Der Unterschied zwischen der Gelatine zu 3% und der neutralen zu 20% ist bei 20° anfangs 10mal so grofs, um dann auf 6—3—2½—2 zu fallen.

3. Diese Schwankungen verlieren sich mit der Abnahme der Unterschiede in der Konzentration der Gelatine.

### c) Einflufs des Ammoniakzusatzes.

Der Beweis, dafs das Ammoniak, besser als das kohlensaure Natron, das Serum und das Eiweifs den proteolytischen Enzymen gegenüber empfindlicher macht, bewog mich, dieses Alkali auch auf die Gelatine zu versuchen. Zu diesem Zwecke gofs ich 1 ccm Trypsin Merk 1:200000 in Röhrchen, die 1 ccm 3proz. mit Ammoniak alkalisierte Gelatine enthielten, und brachte sie in einen Thermostaten zu 20°.

Resultat: Der Kürze wegen die Tabelle unterlassend, sage ich nur, dafs die mit Ammoniak behandelte Gelatine verliert anstatt zu gewinnen, in bezug auf ihre Empfindlichkeit, denn während in den Kontrollröhrchen mit neutraler Gelatine nach zehn Tagen die Verflüssiguug 10 mm erreichte, fanden sich in der Ammoniakgelatine zu 5—10—15—20—25—30—35—40% nur Spuren davon vor, nämlich 1 mm.

## C. Über die Mittel, den Kontakt des Enzymes mit der Gelatine zu begünstigen.

Ein anderes Mittel, die Empfindlichkeit der Methode zu erhöhen, war das, den Kontakt des Trypsins mit der Gelatine zu begünstigen durch Konzentrierung der Enzymspuren auf letztere,

welche in der kleinen Menge (1 ccm) der in den Gelatineröhrchen enthaltenen Flüssigkeit vorhanden sind.

Zu diesem Zwecke suchte ich eine Substanz, welche die notwendigen Bedingungen besitzen konnte, nämlich ein feines, im Wasser unauflösbares Pulver, welches dem Trypsin nicht schaden und die Verflüssigungsfähigkeit der Gelatine nicht vermindern würde. Hätte dieses Pulver eine ausgeprägte Farbe gehabt, so würde es auch dazu gedient haben, die Umgrenzungen der aufgelösten Gelatineschicht sichtbarer zu machen. Unter den verschiedenen Substanzen fand ich das Kohlenpulver am geeignetsten. Nachfolgende in dieser Hinsicht vorgenommene Versuche zeigen deutlich die Wirksamkeit dieses Mittels.

**Versuch.**

In Röhrchen, welche 1 ccm Gelatine und 3% Natron enthielten, wurde zuerst 1 ccm Trypsin Grühler 1 : 400 000 mit dem Zusatze von Karbolsäure zu 5‰, kohlensaures Natron 2‰, sodann von 0,05—0,1 bis 0,15 von den verschiedenen unten angegebenen, in 100 ccm destilliertem Wasser suspendierten Substanzen gegossen.

Die Proben wurden am 25. April gemacht und die Resultate am 25. Mai gesammelt.

Man stellte auch eine Kontrollprobe ohne Substanzen an.

| Substanzen | Gelatine 3% | | |
|---|---|---|---|
| | 0,05 | 0,1 | 0,15 |
| 1. Eisen | 5 | 2½ | 4½ |
| 2. Eisenoxydhydrat | 9 | 9 | 6 |
| 3. Antimonium | 7½ | 6½ | 6 |
| 4. Zink | 5½ | 4 | 5½ |
| 5. Zinkoxyd | 5 | 5½ | 5 |
| 6. Basisch. Wismuthnitrat | 7¼ | 6 | 4½ |
| 7. Manganhioxyd | 6½ | 5½ | 4½ |
| 8. Magnesiumkarbonat | 11 | 8½ | 8½ |
| 9. Magnesiumoxyd | 13½ | 10 | 9 |
| 10. Kohlensaurer Kalk | 6 | 5½ | 6½ |
| 11. Schwefel | 8½ | 8½ | — |
| 12. Ammoniumsulfat | 7 | 9½ | 6 |
| 13. Berlinerblau | 7 | 4½ | 4½ |
| 14. Phenolpbtalein | 6 | 6½ | 5½ |
| 15. Lackmus | 6½ | 4 | — |
| 16. Reisstärke | 7 | 7½ | 6 |
| 17. Knochenkohle | 12 | 9 | 7 |
| 18. Trypsin allein | 6 | 8 | — |

Resultat:

1. Die höchste Fluidifikation erlangte man in Gegenwart folgender Substanzen: Magnesiaoxyd, Knochenkohle, Magnesiumkarbonat, Eisenoxydhydrat, Schwefel, Ammoniumsulphat und Eiweifs.

2. Die geringste Fluidifikation ergab sich beim Vorhandensein von Zinkoxyd, Zink und Eisen.

3. Gewöhnlich zeigte sich die höchste Fluidifikation mit 0,05 ccm der verschiedenen Substanzen und die niedrigste mit 0,15 ccm, eine Mittelfluidifikation hatte man mit 0,1 ccm. Unter den verschiedenen versuchten Substanzen ist also die Kohle eine der geeignetsten, um das vorgesteckte Ziel erreichen zu können, d. h. um den Kontakt des Trypsin mit der Gelatine zu begünstigen und gleichzeitig die niedrigste Grenze der gelösten Gelatineschicht anzuzeigen.

Um die Wirksamkeit der Knochenkohle zu zeigen, lafse ich einige mit dieser Substanz unternommene Versuche folgen.

**I. Versuch.**

In zwei Röhrchen, welche 2% Natrongelatine enthalten, giefse ich 1 ccm Trypsin Merk 1 : 300 000. Einem derselben nur fügte ich 1 mg fein pulverisierte Kohle bei und brachte die Probe in eine Temperatur von 20°. Die Messungen der aufgelösten Gelatineschicht ergaben die in folgender Tabelle wiedergegebenen Resultate:

| Gelatine | Aufgelöste Schicht in | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 6 Tagen | 9 Tagen | 32 Tagen | 46 Tagen |
| | mm | mm | mm | mm |
| Mit Kohle . . . . . | 1 | 3 | 3½ | 4 |
| Ohne Kohle . . . . . | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Kohle ohne Trypsin . . . . | 0 | 0 | 0 | 0 |

**II. Versuch.**

Ich wiederholte den Versuch mit Trypsin 1 : 300 000, indem ich nur die Gelatine wechselte und eine zu 2½% anwendete.

Nachstehende Tabelle bringt die erhaltenen Resultate:

| Gelatine | Aufgelöste Schicht in | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 8 Tg. | 11 Tg. | 28 Tg. | 34 Tg. | 37 Tg. | 45 Tg. |
| | mm | mm | mm | mm | mm | mm |
| Mit Kohle . . . . . | 3 | 7 | 11½ | 10½ | 17 | 17 |
| Ohne Kohle . . . . . | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Kohle ohne Trypsin . . . | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

### III. Versuch.

Ich wiederholte den Versuch mit $2^1/_2$% Gelatine mit 1% Natronzusatz und mit einer Trypsinlösung zu 1 : 500 000 und erzielte folgende Resultate:

| Gelatine | Verflüssigte Schicht in | |
|---|---|---|
| | 11 Tagen | 45 Tagen |
| | mm | mm |
| Mit Kohle . . . . . | 1 | $2^1/_2$ |
| Ohne Kohle . . . . | 0 | 0 |
| Kohle ohne Trypsin . . | 0 | 0 |

### IV. Versuch.

Ich wiederholte den Versuch mit 2% Gelatine zu 1% Natron und mit Trypsin zu 1 : 400 000 und erlangte als Resultat:

| Gelatine | Verflüssigte Schicht in | | |
|---|---|---|---|
| | 8 Tagen | 11 Tagen | 45 Tagen |
| | mm | mm | mm |
| Mit Kohle . . . . . | $2^1/_2$ | $2^1/_2$ | $2^1/_2$ |
| Ohne Kohle . . . . . | 0 | 0 | 0 |
| Kohle ohne Trypsin . . . . | 0 | 0 | 0 |

### V. Versuch.

Ich wiederholte zum letzten Male den Versuch mit Trypsin 1 : 500 000, 3 proz. Gelatine mit 4% Natron, der Erfolg ist:

| Gelatine | Verflüssigte Schicht in | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 20 Tagen | 31 Tagen | 35 Tagen | 46 Tagen |
| | mm | mm | mm | mm |
| Mit Kohle . . . . . | 1 | $1^3/_4$ | 2 | 5 |
| Ohne Kohle . . . . . | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Kohle ohne Trypsin . . . . . | 0 | 0 | 0 | 0 |

Resultat: Aus diesen fünf Versuchen geht deutlich hervor, dafs die Gegenwart des Kohlenpulvers die Empfindlichkeit der Methode sehr vermehrt. In der Tat gelang es mir mit demselben das Trypsin in Auflösungen von aufsergewöhnlicher Verdünnung nachzuweisen, was man bisher nicht nur nicht erreicht, ja nicht einmal gehofft hatte. Vielleicht hervorzuheben ist noch die beständige Tatsache, dafs

wenn die Gelatine in den Röhrchen sich nicht verflüssigt, sie wieder aufschwillt und ihr Niveau um einige Millimeter zunimmt.

Endlich ist noch zu bemerken, dafs man oft wahrnehmen kann, wie in den mit sehr verdünnten Trypsinlösungen, wie z. B. von 1:300000 bis 1:500000 angestellten Versuchen die Verflüssigung nach 30—45 Tagen vollständig aufhört.

Der Gedanke, dafs der Einfluſs des Kohlenpulvers bedeutend weniger klar wäre, wenn die Versuche mit starken Trypsinlösungen vorgenommen würden, lag auf der Hand. Die folgenden, obwohl wenig verschiedenen Versuche bestätigten diesen Verdacht.

**I. Versuch.**

In 100 g Gelatine zu 5% fügte ich 0,5 g Tierkohle, schüttelte das Ganze gut nnd verteilte es im Verhältnis zn 1 ccm in 5 mm weite Prouvetten, die schnell zur Erstarrung gebracht wurden, gofs in eine jede derselben 0,25 ccm Trypsin zu 1‰.

Nach 24 Stunden wurde die verflüssigte Gelatineschicht gemessen und folgendee Resultat erlangt:

| | |
|---|---|
| Gelatine mit Kohle | 3,5 mm |
| Gelatine ohne Kohle | 2 » |

**II. Versuch.**

| Gelatine | Verflüssigte Schicht in | | |
|---|---|---|---|
| | 2 Tagen | 4 Tagen | 5 Tagen |
| | mm | mm | mm |
| Mit Kohle . . . . . | 7 | 9,5 | 11 |
| Kontrolle ohne Kohle . . . | 5 | 9 | 11 |

Resultat: Aus diesen Tabellen ergibt sich, dafs man wohl im Anfange der ersten 24—48 Stunden eine gröfsere Geschwindigkeit in der Verflüssigung der Kohlegelatine hat, vom 4. Tage an aber der Unterschied immer geringer wird, bis er endlich gänzlich verschwindet.

### D. Einfluſs des Entfernens der allmählich flüssig werdenden Gelatine auf die Geschwindigkeit der Gelatinolyse.

Um wenigstens ein teilweises Entfernen und eine Beseitigung der aufgelösten Gelatineschicht, welche die nachfolgende Verflüssigung hindern könnte, zu erlangen, verfuhr ich wie folgt:

Anstatt die Röhrchen mit der festen Gelatine und der Trypsinlösung in natürlicher Stellung aufrecht zu halten, kehrte ich dieselben um.

Dieses tat ich auf zwei verschiedene Weisen.

#### I. Versuch.

Röhrchen, die ganz genau bis an den Rand mit fester Gelatine zu 3—5—10—20—30% angefüllt waren, wurden zusammen in einem kleinen gradnierten Zylinder, der 5 ccm Trypsin Merk 1‰ enthielt, umgekehrt, sodaſs die Gelatine in direkte Berührung mit dem Trypsin selbst kam.

Andere, ähnliche Röhrchen, die nur 1 ccm feste Gelatine und 1 ccm derselben Trypsinlösung Merk zu 1‰ enthielten, wurden gerade aufrecht gehalten. Alle einzelnen Proben wurden in einer Temperatur von 20° gehalten.

Die Resultate befinden sich in nachstehender Tabelle:

| Gelatinekonzentration | Verflüssigte Schicht nach gerade Röhrchen | | | | umgekehrte Röhrchen |
|---|---|---|---|---|---|
| | 24 Std. | 48 Std. | 72 Std. | 96 Std. | 96 Std. |
| Gelatine zu 3% | 3 | 6 | 9½ | 14 | 33 |
| » » 5% | ½ | 3 | 5 | 8 | 13 |
| » » 10% | 0 | 2 | 4 | 5½ | 7 |
| » » 20% | 0 | 0 | 1 | 2 | 4 |
| » » 30% | 0 | 0 | 0 | 0 | ½ |

Resultat: Die Geschwindigkeit der Gelatineverflüssigung ist somit zweimal gröſser in den umgekehrten Röhrchen als in jenen geraden.

Die in der beschriebenen Weise umgekehrten Röhrchen bieten aufserdem den Übelstand, daſs man sie nur einmal und zwar nur am Schlusse des Versuches messen kann; denn beim Herausziehen aus der Flüssigkeit, in der sie sich befinden, füllen sie sich mit Luft an, was, wenn man sie wieder in dieselbe hinein-

legen will, den Kontakt zwischen Gelatine und Trypsinlösung hindert.

Aus diesem Grunde stellte ich diesen zweiten Versuch an.

**II. Versuch.**

Nachdem ich, more solito, die Gelatineröhrchen zubereitet, goſs ich in dieselben, und gerade auf Trypsinlösung, flüssiges Paraffin.

Nachdem letzteres erstarrt war, brachte ich die Röhrchen, teils gerade, teils umgekehrt in eine Temperatur von 20°, nachdem ich mich versichert hatte, daſs keine Lufthläschen in den Röhrchen seien, und daſs der Kontakt zwischen Gelatine und Trypsinlösung aufs vollständigste erhalten sei, was nicht sehr leicht zu erlangen ist für die ganze Dauer des Versuches.

| Lage der Röhrchen | | Aufgelöste Schicht in | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 3 Tg. | 6 Tg. | 9 Tg. | 12 Tg. | 15 Tg. | 18 Tg. | 26 Tg. | 29 Tg. | 32 Tg. |
| Gelatine 2% | gerade | 5 | 9 | 11 | 13 | 16½ | 18½ | 22 | | |
| | umgekehrt | 8 | 12 | 15 | 18 | 20 | 23 | 33 | | |
| Gelatine 10% | gerade | 3 | 5 | 7½ | 9½ | 10½ | 13 | 17 | 18 | 23½ |
| | umgekehrt | 3 | 7½ | 12 | 27 | 20 | 24 | 30 | | 34 |
| Gelatine 30% | gerade | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | | 3 | 4 |
| | umgekehrt | ¼ | 2½ | 3½ | 5 | 6 | 6½ | | 8 | 10 |

Resultat: Die gröfsere Schnelligkeit der Verflüssigung der Gelatine in den umgekehrten Röhrchen schwankt derjenigen der geraden gegenüber vom ¼ bis zum Zehnfachen.

### E. Über den Einfluſs der Erneuerung des Kontaktes zwischen Enzym und Gelatine im Verlaufe der Glutinolyse.

Duclaux im II. Bd. (S. 619) seines Traktates schreibt in einer Kritik meiner Methode: »La plus grave des imperfections est que les deux milieux qui doivent agir l'un sur l'autre ne soient mis en contact que par une surface sur laquelle rien n'assure le renouvellement continué de l'action.«

Dieser Einwand, wenn er dem Anscheine nach von einer gewissen Bedeutung ist, fällt angesichts folgender Tatsachen und folgender Betrachtungen:

1. Besäfse der Mangel der angedeuteten Erneuerung des Kontaktes die ihm von Duclaux zugeschriebene Bedeutung, so müfste die Gelatinolyse nicht nur unregelmäfsig vor sich gehen, sondern nach kurzer Zeit sogar vollständig aufhören. Dies geschieht aber nicht.

Die Verflüssigung kann, wie wir tatsächlich in den zahlreichen vorhergehenden Versuchen gesehen haben, mit regelmäfsigen Schichten, auch 6—10 Monate fortdauern, was ein äufserst langer Zeitraum ist; denn bekanntlich verlieren die Enzyme in Gegenwart des Wassers sehr schnell ihre Fähigkeit.

2. Die Methode Mette (eine Abänderung der meinigen), die ebenfalls denselben Übelstand aufweisen sollte, wird allgemein beim Studium des Pepsins angewandt und dies, weil der obenerwähnte Übelstand von höchst geringer Bedeutung ist, da es sich immer darum handelt, vergleichende und unter denselben Bedingungen angestellte Proben vorzunehmen, nicht aber, um die absolute Menge des Albumins anzugeben, welches von einer gegebenen Enzymemenge verdaut werden kanu. Anderseits ist vielleicht die Erneuerung des Kontaktes in einer gewöhnlichen künstlichen Verdauung vollständig garantiert, wo die Fibriuflocke, der Eiweifswürfel, das Muskelstück unbeweglich auf dem Boden der Flüssigkeit liegen, welche das Enzym enthält?

Welcher Unterschied besteht zwischen dem Eiweifswürfel auf dem Boden der besagten Flüssigkeit und dem Gelatinezylinder aufser einer gröfseren Kontaktoberfläche, welche der Eiweifswürfel dem Enzyme bietet? Übrigens hatte ich nicht schon viele Jahre vor Duclaux auf diesen Einwand über die Erneuerung des Kontaktes hingewiesen und iu dieser Hinsicht folgende Forschungen angestellt?

**Versuch.**

**Man bereitet zwei Gelatineröhrchen, deren jedes 10 ccm einer Trypsinlösung von 1 : 1000 enthält, eines derselben wird in Ruhe gelassen, durch die in dem anderen enthaltene Flüssigkeit wird ein Luftstrom geleitet.**

Als Kontrolle wurde ein gleicher Luftstrom durch ein anderes Gelatineröhrchen, welches 10 ccm Karbolsäurelösung zu 1% enthielt, geleitet. Nach 48 Stunden war das Resultat folgendes:

| | Aufgelöste Gelatineschicht |
|---|---|
| Gelatineröhrchen mit 10 ccm Trypsin zu 1 : 1000, in Ruhe gelassen | 1 mm |
| Gelatineröhrchen mit 10 ccm Trypsin zu 1 : 1000, durch welches ein Luftstrom geleitet worden war | 2,5 mm |
| Gelatineröhrchen mit 10 ccm destilliertem Wasser, durch welches ein Luftstrom geleitet wurde | 0 |

Man erreicht denselben Zweck, wenn man, anstatt die Luft durch die Flüssigkeit zu leiten, letztere durch häufiges Schütteln in Bewegung hält.

Resultat: Beim Bewegen der Flüssigkeit, welche die Enzyme enthält, kommen die Moleküle der Enzyme besser in Berührung mit der Gelatine und die Schnelligkeit der Gelatinolyse steigt.

### F. Maximum der mit der Methode der festen Gelatineröhrchen erlangten Empfindlichkeit.

Im Besitze einer Reihe von Mitteln, die geeignet sind, die Empfindlichkeit der Gelatine in wirksamer Weise zu vermehren, durch Verminderung der Konzentration oder durch Empfindlichmachen derselben mittels kohlensauren Natrons oder durch Konzentrierung der Trypsinspuren auf ihrer Oberfläche wie auch durch Entfernung der aufgelösten Schicht, indem man die Röhrchen umkehrt usw., wollte ich nun feststellen, bis zu welcher Verdünnung das Trypsin noch nachweisbar sei.

Zu diesem Zwecke arbeitete ich mit dem Trypsin Grübler, (welches viel kräftiger ist als das von Merk) und zwar in Verdünnungen von 1 : 600 000—1 : 1000 000 und mit Gelatine zu 3proz. mit 2proz. Natron.

Dieser Versuch, welcher in derselben Weise wie die vorigen vorgenommen wurde, führte mich zu folgendem Resultate:

| Grüblersche Trypsinlösung | Verflüss. Schicht in | |
|---|---|---|
| | 11 Tagen | 14 Tagen |
| 1 : 600 000 | 11 | 16 |
| 1 : 700 000 | 5 | 10 |
| 1 : 800 000 | 3 | 8 |
| 1 : 900 000 | 2 | 6 |
| 1 : 1000 000 | 1 | 5 |

Resultat: Diese Tabelle zeigt, wie man mit der oben angegebenen Methode eine aufsergewöhnliche Empfindlichkeit erlangen kann, so dafs man in der Lage ist, ein sehr tätiges Trypsin in einer Verdünnung bis zu 1:1000000 nachweisen zu können.

Ebenfalls gelang es mir, eine höhere Empfindlichkeit mit Gelatine zu 1% und Soda 1% zu erhalten, indem ich bis 1:1400000 kam, wie nachstehender Versuch es beweisen wird[1]).

In Gelatineröhrchen zu 1% und Soda zu 1% gofs ich 1 ccm einer Lösung Grüblerschen Trypsins von 1:1000000 bis zu 1:400000 in destilliertem Wasser. Als Resultat ergab sich:

| Grüblersche Trypsinlösung | 5 Tage | 8 Tage |
|---|---|---|
| 1:1000000 | 3 | 6 |
| 1:1100000 | 2½ | 5 |
| 1:1200000 | 2 | 3½ |
| 1:1300000 | 1½ | 3 |
| 1:1400000 | 0 | 1 |

Wenn man bedenkt, dafs das Trypsin bei 1:1200000 selbst beim Gebrauch von 1 ccm genannter Lösung nachweisbar ist, so wird es wohl keine Übertreibung sein, wenn man sagt, dafs die Empfindlichkeit der Methode eine aufsergewöhnliche ist, und dafs die nachweisbare Fermentmenge eine unwägbare und geradezu eine unfafsbare ist.

### G. Über die schnelle Zerstörung der Trypsintätigkeit in sehr verdünnten Lösungen.

In diesen sehr delikaten Forschungen ist es unumgänglich, stets mit frisch bereiteten Trypsinlösungen zu arbeiten, da das Trypsin in sehr verdünnten Lösungen, besonders in destilliertem Wasser sich abschwächt und sich schnell zerstört. Unternimmt man heute eine Untersuchung mit einer Trypsinlösung verdünnt

1) Die Gelatine zu 1% kann nur angewandt werden, wenn die Zimmertemperatur 12—14° nicht übersteigt.

z. B. zu 1:1000000 und man wiederholt den Versuch mit derselben Lösung, auch nur nach 2—3 Tagen, so erlangt man ein total negatives Resultat.

Alles dies kann man, aufser in den andern von mir angestellten Versuchen, auch aus den folgenden wahrnehmen:

Man gieſst in Röhrchen, welche 1 ccm 2% Gelatine und Natron 2% enthalten, 1 ccm von einer verdünnten frischen oder 5 Tage alten Trypsinlösung.

Nach 8 Tagen wurde die aufgelöste Gelatineschicht gemessen und das Resultat war:

| Lösung von Grübler Trypsin | Verflüssigte Schicht nach 8 Tagen | |
|---|---|---|
| | frische | 5 Tage alte |
| 1:1 000 000 | 5 | 0 |
| 1:1 100 000 | 4½ | 0 |
| 1:1 200 000 | 3½ | 0 |
| 1:1 300 000 | 2½ | 0 |
| 1:1 400 000 | 1 | 0 |

Resultat: Wie man sieht, war die Tätigkeit der Trypsinlösung von 1:1000000—1:1400000 völlig zerstört.

### H. Kritik der von Mette und Linossier eingeführten Abänderungen meiner Röhrchenmethode.

Mette war der Erste, der in meine ursprüngliche Röhrchenmethoden Modifikationen einführte, ihm folgte Linossier. Diese Modifikationen finden in folgender Weise statt. Anstatt das Enzym in Gelatine, Serum oder Eiweifsröhrchen zu gieſsen, wie ich es tue, kehren sie das Verfahren um und tauchen die Röhrchen in die Enzymlösungen.

Linossier verfuhr mit Gelatineröhrchen folgendermafsen: Kapillarröhrchen, 2 cm lang, welche gefärbte, feste Gelatine enthielten, werden in die Enzymlösung gebracht, nach einer gewissen Zeit wird die gelöste Gelatineschicht gemessen, indem das Röhrchen an ein in Millimeter geteiltes Mafs gebracht wird, auf dem man mit Hilfe des Mikroskopes die Mafse liest.

Mir gelang es nicht, die Änderung anzuwenden, und zwar folgender Umstände halber:

1. Vor allem ist diese Methode viel komplizierter als die meinige, da aufser den Prouvetten auch noch Kapillarröhrchen notwendig sind, und anstatt direkt zu messen, mufs man die Röhrchen mit Pinzetten herausnehmen und abtrocknen, auf den Mafsstab befestigen und sie unter das Mikroskop bringen. Nehmen wir an, dafs wir alle 12—24 Stunden einige 20 Proben messen müssen, wie dies nicht selten vorkommt, was für eine Mühe und einen Zeitverlust würde diese Arbeit mit sich bringen!

2. Nicht immer unbedeutende Verluste der Enzymelösung, in welcher die Röhrchen sich befinden, während des wiederholten Herausnehmens derselben, um sie unter das Mikroskop zu bringen.

3. Da die Kapillaren vollständig in die Flüssigkeit getaucht werden müssen, so ist für jede Probe ein aufserordentlicher Verbrauch an Flüssigkeit notwendig, was zur Folge haben kann, dafs die Anzahl der Versuche wegen Mangels an Material vermindert werden mufs.

Während meine Methode in der Tat nur 0,2—0,5 ccm Flüssigkeit pro Probe erfordert, verlangt jene Mette-Linossiers mindestens 3—5 ccm, angenommen, dafs man die Methode noch komplizierter machen wolle, indem man die gewöhnlichen Prouvetten durch andere mit kleinerem Kaliber (4—5 mm) ersetzen wolle, die eigens bestellt werden müfsten.

4. Ein anderer Übelstand, auf den ich gestofsen bin, ist, dafs oft, auch selbst wenn die Gelatine gefärbt ist, man nicht einmal mit dem Mikroskop die Grenze zwischen der erstarrten Gelatine und der Flüssigkeit sieht, und eine genaue Messung der aufgelösten Schicht nicht stattfinden kann.

5. Ein anderer Übelstand kann endlich noch auf folgende Art auftreten: es geschieht oft, dafs beim Schütteln der Kapillaren, sei es um die Grenzen der beiden Schichten zu sehen, sei es durch Zufall oder beim Abtrocknen der Kapillaren selbst, ein wenig Flüssigkeit aus letzteren herausfliefst und dieselbe durch kleine

Luftbläschen ersetzt wird; die Folge hiervon ist, dafs beim neuen Eintauchen der Kapillaren in die Flüssigkeit diese Bläschen den Kontakt der Enzyme mit der Gelatine verhindern und auf diese Weise den Versuch unterbrechen.

Ich habe mit dieser Methode verschiedene Versuche angestellt, ohne aber, entweder wegen Mängel derselben, oder aus eigener Unerfahrenheit, etwas erreichen zu können. Welche Vorteile kann man übrigens aus dem Eintauchen des Röhrchens ins Enzym, oder hingegen aus dem Eingiefsen des Enzyms in die Röhrchen ziehen?

Vielleicht kann man eine gröfsere Empfindlichkeit, eine gröfsere Schnelligkeit in der Verflüssigung erzielen? Dies ist zu bezweifeln, denn die Schnelligkeit der Verflüssigung vermehrt nicht, sondern vermindert die Kontaktoberfläche der Gelatine mit dem Enzym. Zu welchem Zwecke soll man sich also der Kapillarröhrchen bedienen, die aufser den angedeuteten Mifsständen noch des Mikroskopes bedürfen, um die aufgelöste Schicht messen zu können?

Ich führe einen dieser Versuche an.

Am 20. April füllte ich Kapillarröhrchen, wie solche zum Tupfen dienen, von einem Durchmesser von 1—2 mm mit teilweiser ungefärbter und teilweise mit Methylenblau oder mit sehr feinem Pulver von Tierkohle gefärbter Karbolgelatine. Stücke dieser Röhrchen von 1—2—3—4 cm Länge setzte ich senkrecht in Prouvetten von 6 mm Durchmesser, welche 1—2—3 ccm Trypsin zu 1‰ enthielten, und hielt die Prouvetten in einer Temperatur von 20° C. Nach 24 Stunden ergab sich folgendes Resultat:

Es gelang weder in den Kapillarröhrchen, die einfache Gelatine enthielten, noch in jeuen, in deneu sich mit Methylenblau gefärbte befand, die aufgelöste Gelatineschicht zu sehen.

Nur nachdem die Röhrchen herausgenommen und die flüssige Gelatine mittels Pipette oder Löschpapier aufgesaugt worden war, gelang es mir, eine Schicht flüssiger Gelatine von 5 mm zu messen. Ganz anders verhält es sich mit den Röhrchen, welche Kohlegelatine enthalten, da beim Verflüssigen dieser

Gelatine die Kohle sich auf die Oberfläche der festen Gelatineschicht absetzt, und genau die Grenze der verflüssigten Schicht anzeigt. Hierzu kam, dafs infolge des neuen Eintauchens der Kapillaren in das Trypsin die aus dem Röhrchen geflossene Flüssigkeit durch Luftbläschen ersetzt war, welche den Kontakt des Trypsins und der Gelatine verhinderte und den Versuch verdarb.

Man konnte den beständigen Prozefs der Verflüssigung wahrnehmen, ohne jedoch in jenen Röhrchen mit Kohlegelatine, die nicht vollkommen aus der Trypsinlösung entfernt worden waren, die verflüssigte Schicht genau messen zu können. Bei einer anderen ähnlichen Probe konnte ich, aber nie genau, und dies aus oben erwähnten Gründen, folgende Messungen vornehmen: nach 2 Tagen unterhalb 10 mm Verflüssigung, nach 3 Tagen 14 mm unterhalb und 4,5 mm oberhalb; am 4. Tage 17 mm unterhalb und 6 mm oberhalb; nach 5 Tagen mafs ich unerwarteterweise 20 mm oben und 20 mm unten. Man sieht also, dafs auch mit dieser Methode die Verflüssigung keinen regelmäfsigen Verlauf gezeigt hätte. Angesichts aller dieser Übelstände, wiederhole ich, hielt ich es nicht für angebracht, mich der Methode Linossiers zu bedienen. Die aufgelöste Schicht ist hingegen sichtbar, wenu man mit den Eiweifs- (Methode Mette) oder den Serumröhrchen arbeitet.

### III. Methode der festen Gelatineplatten.

Will man das Vorhandensein proteolytischer Enzyme direkt in Tier- und Pflanzenorganen aufsuchen und verfügt man nur über ganz wenig Material, so kann man die zu untersuchenden Teilchen direkt in Kontakt mit fester Gelatine bringen.

Dies kann der folgenden Methode gemäfs geschehen.[1])

1) In meiner schon angeführten Arbeit »La gelatine come reagente etc.«, die vor ca. 15 Jahren veröffentlicht wurde, beschrieb ich diese Methode in folgender Weise:

»Will man das gelatinolytische Enzym direkt auf festem Pflanzen- oder Tiermaterial aufsuchen, so verfahre man wie folgt: Man schneide das Material sehr fein, lasse es 12—24 Stunden in einer Karbolsäurelösung zu 1%,

1. Man gießt eine Schicht von ungefähr 2—3 mm more solito zubereiteter Gelatine auf eine Glasscheibe, oder besser in eine Petrische Schale.

2. Nach Erstarrung der Gelatine bringe man auf die Oberfläche derselben die zu untersuchenden Teilchen von der Größe eines Getreidekornes, wenigstens mit 1 cm Entfernung voneinander. Verfügt man über genügendes Material, so ist es gut, auf die Gelatine mehrere Teilchen der gleichen Substanz zu bringen, anstatt einer einzigen. Bisweilen geschieht es in der Tat, daß eines dieser Teilchen, entweder seitens des Tieres oder des Organes, dem es entnommen, oder auch je nach der Seite, mit welcher es mit der Gelatine in Kontakt gebracht wird, wie dies der Fall ist, wenn ein Stück Darm auf die seröse Seite anstatt auf die Schleimhautseite gelegt wird, die Gelatine nicht verflüssigt.

Auf diese Weise gelangt man nicht nur zu sicheren Resultaten, sondern man verkürzt auch die Arbeit, da man sozusagen denselben Versuch mehrmals wiederholt.

dann nehme man es heraus und gieße es in eine Petrische Schale, die 10 ccm flüssige Karbolsäuregelatine enthält, schüttle dieselbe so, daß die Teilchen so gleichmäßig als möglich in der Kapsel selbst verteilt werden, man lasse dann die Gelatine gerinnen, bringe hierauf die Kapsel in eine Temperatur von 20—25° oder man halte sie bei Zimmertemperatur, je nach deren Höhe und nach der Art des Versuches. Enthält das zu untersuchende Material ein gelatinolytisches Enzym, so wird man nach einer bestimmten Zeit (5—48 Stunden) ringsum die Teilchen und unter denselben die Gelatine flüssig finden. Ein anderer älterer, in dieser Beziehung angestellter Versuch war folgender[1]):

Reine Kulturen in Gelatine des Bac. Anthracis, des Kochschen Vibrio und des Vibrio von F. Prior wurden in geeigneter Weise sterilisiert. Man nahm drei Röhrchen Gelatine, goß in jedes derselben einen Tropfen von einer der erwähnten Kulturen und bereitete ebensoviele Platten. Nach 3 Tagen sah man mit bloßem Auge, daß sie vollständig steril waren. Nur nach genauer Untersuchung der Platte, welche den Kochschen Vibrio enthielt, zeigten sich 56—60 Stellen der Gelatine aufgelöst wie verflüssigende Kolonien, denen jedoch die charakteristische Trübung fehlte, und nach einer Untersuchung bewiesen sie sich als vollkommen steril.

Nach 10 Tagen waren die Punkte der flüssigen Gelatine auf der Platte mit dem Kochschen Vibrio auf ungefähr Hundert gestiegen, ohne daß die alten sich sichtlich erweitert hätten.

[1]) Claudio Fermi. Die leim- und fibrinlösenden etc. Fermente der Mikroorganismen. Archiv f. Hyg. Bd. X, 1890, S. 5.

3. Verfügt man über ein reichhaltiges Material, genügt aber nicht die Anzahl der Schalen, wie dies oft geschieht, so kann dieselbe Schale zur Untersuchung von 10—20 verschiedenen Substanzen dienen, je nach der Gröfse der Schale. In diesem Falle schreibt man genau die zahlreichen Aufzeichnungen auf Papierstreifen von einer Breite von 1—2 cm und von einer Länge, welche den Durchmesser der Kapsel oder die Breite der Platte nicht übersteigt, dieselben klebe man parallel in Zwischenräumen von 1 cm auf die äufsere Seite des Bodens der Schale. Auf diese Weise werden die Angaben durch die Gelatine hindurch sichtbar sein. Man klebt sie nicht auf den Deckel, da dieser beweglich ist und die Angaben infolge des Verschiebens desselben nicht mehr entsprechen würden.

4. Um das Eintrocknen der Gelatine zu vermeiden, schliefst man die Schalen in feuchte Tyndallsche Glocken, und gegen allzu hohe oder allzu niedrige Temperaturen schützt man sie, indem man sie in einem Thermostat bei 20—22° aufbewahrt.

5. Um das Gedeihen von Keimen in den Teilchen zu vermeiden, die eigener gelatinolytischen Enzyme wegen zu Irrtümern führen könnten, können die Teilchen vorher selbst in eine Lösung von 0,5—1 proz. Karbolsäure getaucht werden, oder man gieſse einen Tropfen einer glyzerinierten (10 proz.) Lösung auf dieselben.

In der Praxis ist dies nicht immer notwendig. Ich war gezwungen, besonders das Material beim Untersuchen der Wurzel mit gesäuerter Gelatine zu desinfizieren, und zwar wegen der üppigen Entwicklung der gelatinolytischen Hyphomyzeten.

Die Schalen werden alle 5—24 Stunden untersucht. Die Resultate kann man in wenigen Stunden, wie auch nach zwei oder drei Tagen erlangen, je nach der Energie des Enzyms und der Zimmertemperatur.

Hat man nach Verlauf von 5—6 Tagen keine Spuren von einer Verflüssigung wahrgenommen, so kann man auf das Nichtvorhandensein des nachgesuchten Enzyms schliefsen.

**Antwort gegen die Professoren Hankin und Wesbrook in bezug auf die Priorität der Plattenmethode und auf einige ihrer kritischen Bemerkungen.**

Diese beiden Autoren schienen meine Röhrchenmethode aus dem Wege räumen zu wollen, ohne dieselbe zu kennen, da sie nicht einmal wufsten, dafs das von mir gebrauchte Reagens die Gelatine und nicht das Fibrin war, und schlugen eine eigene vor.

Unglücklicherweise jedoch, ohne es zu ahnen, gerieten sie in eine andere von mir beschriebene Methode hinein, indem sie dieselbe ohne grofsen Vorteil umänderten. Die beiden genannten Autoren schrieben:

»Quelles sont les diastases produites par le bacille du charbon? Fermi a fait des recherches sur les diastases secrétées par les microbes. Bien qu'il ait trouvé, que beaucoup d'espèces différentes possèdent le pouvoir de produire une diastase proteolytique il n'a pas trouvé qu'il en soit de même pour le charbon (!). Il nous parait que s'il a obtenu un semblable résultat, c'est pas ce qu'il n'a pas employé des moyens assez délicats. Nous allons décrire une dont nous sommes servis dans ce travail.

Si l'on prend une plaque de verre enduite d'une couche mince d'une solution alcaline de gélatine à 5% et si l'on place sur celle-ci deux gouttes des mêmes 5 volumes l'une d'eau, et l'autre d'une solution de trypsine, les gouttes conservent la même apparence et se comportent de même, tout que la plaque est laissée dans une position horizontale. Si au contraire la plaque es inclinée légèrement, une différence se manifeste. La goutte de la solution de trypsine au contraire, commence à s'étendre en bas, grâce à son pouvoir de liquefier la gélatine et après quelques heures un petit sillon se forme. La largeur de ce sillon depend du temps pendant lequel la plaque a été dans une position

1) Es ist durchaus nicht notwendig, die Platte zu beugen, um unterscheiden zu können, ob ein Tropfen Trypsin oder ein Stückchen des auf die Oberfläche der Gelatine gelegten Materials sich verflüssigt habe oder nicht. In den vielen Jahren meiner Praxis habe ich es nie für notwendig befunden, zu diesem Mittel zu greifen, welches die einzige Abänderung meiner Methode darstellt.

inclinée, de la grosseur de la goutte et aussi du pouvoir diastasique que exèrce la trypsine sur la gélatine.

Sur ce principe on peut baser une méthode très délicate pour névifier la présence de diastases qui liquefient la gélatine.

Le microbe du charbon produit-il une diastase proteolytique? Fermi l'a nié (!). Il a placé un morceau de fibrine (!) dans le liquide qui a servi à epuiser une culture sur milieu solide. De ce que le morceau de fibrine ne disparait pas il n'a conclus qu'il n'existe pas de diastase protéolytique. Cette diastase, comme nous verrons bientôt dans son action sur les matières protéiques produit du peptone (biuret) et des albuminoses[1]).

In diesen wenigen Zeilen der Kritik Hankins und Wesbrook mufs ich drei grofse Ungenauigkeiten hervorheben.

Die erste besteht darin, dafs die beiden Autoren eine meiner alten, oben angeführten Methoden, die sie ein wenig umgeändert haben, als ihre eigene beschriebene haben.

Der Unterschied aber zwischen dieser Methode und jener der von mir gewöhnlich angewandten festen Gelatineröhrchen, besteht nur darin, dafs man nach einer dieser Methoden das Enzyme enthaltende Material auf irgend einen gewissen Punkt der Oberfläche einer Gelatineplatte bringt, während man nach der anderen das Material in Kontakt mit einer durch das Röhrchen selbst gut begrenzten Gelatineoberfläche bringt. Die Röhrchenmethode bietet den grofsen Vorteil, die Tätigkeit der Enzyme zu messen und in Millimetern der gelösten Gelatine auszudrücken; sie eignet sich auch zu quantitativen und Vergleichsforschungen. Die Plattenmethode, dank ihrer ausgedehnten Oberfläche, hat nur den Vorteil, auf ein und derselben Platte der qualitativen Forschung auf gelatinolytische Enzyme eines reichlicheren und verschiedentlicheren Studienmaterials vornehmen zu können.

Die zweite wirklich unbegreifliche Ungenauigkeit besteht darin, dafs Hankin und Wesbrook behaupten, meine Forschungsmethode basiere auf dem Fibrin! Sie beweisen hiermit deutlich, nicht eine einzige meiner Arbeiten über diese Frage gelesen, ja

1) Annales Pasteur. Vol. VI, p. 636, 1892.

nicht einmal aus den Zeitschriften vernommmen zu haben, dafs meine Forschungsmethode in bezug auf die gelatinolytischen Enzyme sich auf die Gelatine und nicht auf das Fibrin basiert.

Die dritte und gröbste Ungenauigkeit besteht endlich darin, dafs sie behaupten, ich habe dem Bacillus anthracis ein proteolytisches Enzym abgesprochen, gerade infolge der Benutzung von Fibrin.

Nun genügt es aber, auch nur einen oberflächlichen Blick auf meine erste Arbeit zu werfen (Seite 3 I. Versuch, Seite 4 II. Versuch, Seite 5 II. und IV. Versuch, Seite 7 VII. und VIII. Versuch, Seite 11 XII. Versuch, Seite 12 XIII. Versuch, Seite 14 XV. Versuch), um wiederholt den Beweis der Existenz der proteolytischen Enzyme des Bacillus Anthracis zu finden.

Das Sonderbarste jedoch ist, dafs das Euzym des Bacillus anthracis an der Spitze der verschiedenen Tabellen erscheint.

Ohne hier diese Tabellen wieder anzuführen, weise ich auf meine Arbeit: »Die leim- und fibrinlösenden etc.[1]) Fermente der Mikroben« Seite 4, 5, 7, 11, 12, 13 sowie auf den Anfang dieser Veröffentlichung hin, wo jene Forschungen zum Teile wiedergegeben sind. Ich beschränke mich hier auf die Wiedergabe einer Stelle jener Arbeit, die auf Seite 13 zu finden ist:

»Alles zusammenfassend ist mittels der angestellten Forschungen ein die Gelatine verflüssigendes Ferment für folgende Mikroorganismen bewiesen und notiert worden:

1. Bac. anthracis,
2. Vibrio Koch,
3. Vibrio F. Prior,
4. Bact. prodigiosus,
5. Bact. ascoformis,
6. bac. ramosus,
7. B. pyocyaneus,
8. V. Milleri,
9. V. Deneke,
10. B. subtilis,
11. Megaterium,
12. Trichophyton tonsurans.«

Man sieht also hier, dafs ein proteolytisches Enzyme des Bacillus anthracis nicht nur wiederholt nachgewiesen wurde, sondern dafs es auch der Gegenstand ganz besonderer Forschungen war, und dafs er immer den ersten Platz in den Versuchen gehabt hat.

[1]) Archiv f. Hyg. Bd. X, 1890.

Ich richtete in dieser Hinsicht einige Zeilen an Duclaux, der, obwohl ungern, sich der Sache annahm und mir einige Zeit darauf mitteilte, dafs er den Auszug der von Hankin und Wesbrook diesbezüglichen Berichtigung veröffentlicht habe.

In der Tat erschien folgende Berichtigung in den Annales de l'Institut Pasteur vol. IV. S. 853. Rectification. Nous recevons de M. Hankin une lettre, disant que c'est par erreur que, dans la mémoire de M. Hankin et Wesbrook inséré a page 633 de ce Volume, M. Fermi est cité comme ayant dénié au bacille du carbon, la faculté de sécrètes une diastase protéolytique. M. Fermi a démontré le contraire dans l'Archiv für Hygiene XX.

Diese Berichtigung braucht keine Erläuterung!

## IV. Methode der Fixierung und Extraktion der proteolytischen Enzyme mittels Fibrin.

Die Tatsache, dafs es Stoffe gibt, welche die Eigenschaft besitzen, die Enzyme zu fixieren, brachte mich auf den Gedanken, eine andere Versuchsmethode zu finden.

Zu diesem Zwecke untersuchte ich aufser dem Fibrin, dessen Fixierungskraft schon bekannt war, in bezug auf das Trypsin, auch andere Stoffe wie z. B. Serum, Eiweifs, Kasein etc.

### Versuch 1.

Ich bereitete nach und nach stets verdünntere Trypsinlösungen bis 1 : 200 000, versuchte dann die Tätigkeit mittels feeter Gelatineplatten. Die Gelatine wurde zu 5% alkalisch (1% kohlensaures Natron) wie neutral angewandt.

Zu diesem Zwecke bereitete ich zwei alkalische Gelatineplatten und zwei neutrale, sowie eine Anzahl runder Scheiben Filtrierpapiers von 4 mm Durchmesser und kleine Fibrinetückchen von ungefähr derselben Gröfee.

Mit einer feinen Pinzette nahm ich nun eines dieser Papierscheibchen und ein Stückchen Fibrin und brachte sie leicht mit der Oberfläche einer der Trypsinlösungen in Berührung. Ich begann mit am meisten konzentrierten Lösungen; hierauf legte ich das getränkte Papier auf die Gelatineplatte. So fuhr ich nach und nach fort mit anderen Trypsinlösungen, bis zu den verdünntesten.

Die gleiche Operation wurde mit der neutralen Gelatineplatte wiederholt. Die mit Trypsin getränkten Papier- und Fibrinstücke wurden in die Mitte von 1 qcm grofser Quadrate, in welche die Platten vorher eingeteilt worden waren, um die Papierscheiben in gleiche Entfernungen voneinander zu bringen, niedergelegt. Die Platten wurden unter Tyndallschen Glocken aufbewahrt.

Nach 4 Tagen erbielt ich folgendes Resultat:

| Fibrin | Papier | | Trypsin-lösung |
|---|---|---|---|
| Alkalisch. Gelatine | Neutrale Gelatine | Alkalisch. Gelatine | |
| + | + | + | 1 : 5 000 |
| + | | + | |
| + | 0 | + | 1 : 6 000 |
| + | | | |
| + | 0 | + | 1 : 7 667 |
| + | 0 | + | 1 : 11 000 |
| + | 0 | + | 1 : 11 526 |
| + | 0 | + | 1 : 12 111 |
| + | 0 | 0 | 1 : 12 765 |
| + | 0 | 0 | 1 : 13 500 |
| + | 0 | 0 | 1 : 14 333 |
| + | 0 | 0 | 1 : 15 286 |

| Fibrin | Papier | | Trypsin-lösung |
|---|---|---|---|
| Alkalisch. Gelatine | Neutrale Gelatine | Alkalisch. Gelatine | |
| + | 0 | 0 | 1 : 16 384 |
| + | 0 | 0 | 1 : 17 667 |
| + | 0 | 0 | 1 : 19 182 |
| + | 0 | 0 | 1 : 21 000 |
| + | 0 | 0 | 1 : 23 222 |
| + | 0 | 0 | 1 : 26 000 |
| + | 0 | 0 | 1 : 29 571 |
| 0 | 0 | 0 | 1 : 34 333 |
| 0 | 0 | 0 | 1 : 67 667 |
| | 0 | 0 | 1 : 101 000 |
| | 0 | 0 | 1 : 201 000 |

Ich wiederholte den Versuch in bezug auf die Fixierkraft verschiedener anderer Stoffe wie: Serum, geronnenes Eiweifs, Kasein, Holzstoffe, Kohlen usw. und erlangte folgende Resultate.

Aus diesen Versuchen ergibt sich:

1. Dafs mittels dieser Methode bis zu 1:12111 ein sicherer Nachweis zu führen ist.

2. Dafs die Alkaligelatine unvergleichlich empfindlicher ist als die neutrale, so dafs mit dieser nicht einmal mit Sicherheit die Lösung von 1:1000 nachzuweisen war.

3. Dafs das Fibrin die Kraft besitzt, eine gröfsere Menge Trypsin zu fixieren und der Gelatine zu überlassen, als das Filtrierpapier, so dafs ich mit dem Fibrintrypsin bis zu einer Lösung von 1:21000 bis 29571 wahrnehmen konnte. Papierscheiben von 4 mm Durchmesser und 1 mm Stärke von Holz verschiedener Pflanzen, Kork, Kohle, Serum, geronnenem Eiweifs, Kasein standen dem Fibrin nach.

4. Dafs meine andere, ältere Methode mit festen Gelatineröhrchen bei der Untersuchung der proteo-

lytischen Enzyme ohne weiters einfacher, empfindlicher und sicherer als diese ist.

Nachdem ich einmal festgestellt hatte, dafs unter den von mir untersuchten Substanzen das Fibrin sich am besten zur Fixierung und Extraktion des Trypsins eignete, wollte ich sehen, wie weit ich die Empfindlichkeit dieser Methode treiben konnte.

### Versuch II.

In 20 Prouvetten, die 20 verschiedene Merk Trypsinlösungen enthielten (von 1 : 20 000 bis 1 : 200 000), legte ich zehn Fibrinstückchen von der Gröfse eines Getreidekornes nnd brachte dann die Prouvetten in den Ofen anf 20°.

Unterdessen hereitete ich die Petrischen Schalen, die eine feste Gelatineschicht zu 3—5 % nnd Natron zn 2 % enthielten, anf einem Papierstreifen von gleicher Gröfse als die Schale, bezeichnete ich die 20 Trypsinlösungen, klehte sie dann mit der Seite, welche die Aufschrift trug, auf die äufsere Oberfläche des Bodens der Schale, so dafs die Aufzeichnnng durch die Gelatineschicht hindurch sichthar war.

Nachdem dies geschehen war, zog ich nach 24 Stunden aus jeder dieser Pronvetten zwei Stückchen Flhrin und legte sie auf die Schale mit der Gelatine zu 5 %. eines nehen das andere, der dieshezüglichen Aufzeichnung nach geordnet.

Ich wiederholte dasselbe Verfahren, indem ich 40 andere Fibrinstückchen auf die andere Schale zerstrente, welche die Gelatine zu 3 % enthielt, und brachte dann die heiden Kapseln in den Ofen auf 20°.

Um anch den Einflufs der Kontaktdauer zwischen Fibrin und Trypsin zu stndieren, wiederholte ich den Versuch, indem ich die gewöhnlichen Fibrinstückchen herauszog und zerstreute, nachdem sie länger als 5 Tage im ganzen 6 Tage) in der Trypsinlösung zngehracht hatten.

Beim Untersuchen der Kapseln eines jeden ersten nnd vierten Tages erlangte ich folgendes Resnltat:

| Trypsinlösung | Dauer der Immersion: 1 Tag, Gelatine 3 % | | 1 Tag, Gelatine 5 % | | 6 Tage, Gelatine 3 % | | 6 Tage, Gelatine 5 % | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Platten beobachtet nach: 2 Tg. | 4 Tg. | 2 Tg | 4 Tg. | 2 Tg. | 4 Tg | 2 Tg. | 4 Tg. |
| 1 : 201 000 | 0 0 | 0 0 | 0 0 | 0 0 | — — | + + | 0 0 | + + |
| 1 : 101 000 | 0 0 | 0 0 | 0 0 | 0 0 | — — | + + | 0 0 | + + |
| 1 : 67 667 | 0 0 | 0 0 | 0 0 | 0 0 | — | + + | 0 0 | + + |
| 1 : 51 000 | 0 0 | 0 0 | 0 0 | 0 0 | + + | + + | 0 0 | + + |
| 1 : 41 000 | 0 0 | 0 0 | 0 0 | 0 0 | + + | + + | 0 0 | + + |
| 1 : 34 333 | 0 0 | 0 0 | 0 0 | 0 0 | + + | + + | 0 0 | + + |

| Trypsinlösung | Dauer der Immersion: 1 Tag – Gelatine 3% | 1 Tag – Gelatine 5% | 6 Tage – Gelatine 3% | 6 Tage – Gelatine 5% |
|---|---|---|---|---|
| | Platten beobachtet nach | | | |
| | 2 Tg. / 4 Tg. | 2 Tg. / 4 Tg. | 2 Tg. / 4 Tg. | 2 Tg. / 4 Tg. |
| 1 : 29 571 | 0 0 / 0 0 | 0 0 / 0 0 | + + / + + | 0 0 / + + |
| 1 : 26 000 | 0 0 / 0 0 | 0 0 / 0 0 | + + / + + | 0 0 / + + |
| 1 : 23 222 | 0 0 / + + | 0 0 / + + | + + / + + | 0 0 / + + |
| 1 : 21 000 | − + / + + | 0 0 / + + | + + / + + | + + / + + |
| 1 : 19 182 | + / + + | 0 0 / + + | + + / + + | + + / + + |
| 1 : 17 667 | 0 0 / + + | 0 0 / + + | + + / + + | + + / + + |
| 1 : 16 384 | 0 0 / + + | 0 0 / + + | + + / + + | + + / + + |
| 1 : 15 286 | 0 0 / + + | 0 0 / + + | + + / + + | + + / + + |
| 1 : 14 333 | 0 0 / + + | 0 0 / + + | + + / + + | + + / + + |
| 1 : 13 500 | 0 0 / + + | 0 0 / + + | + + / + + | + + / + + |
| 1 : 12 765 | 0 0 / + + | 0 0 / + + | + + / + + | + + / + + |
| 1 : 12 111 | 0 0 / + + | 0 0 / + + | + + / + + | + + / + + |
| 1 : 11 526 | 0 0 / + + | 0 0 / + + | + + / + + | + + / + + |
| 1 : 11 000 | + + / + + | 0 0 / + + | + + / + + | + + / + + |

Resultat. — Diese Tabelle zeigt:

1. Dafs bei längerer Immersion des Fibrins als nur zwei Tage und beim Gebrauch einer 3proz. Gelatine (Soda 2%) man das Trypsin bis zu 1 : 23000 nachweisen konnte.

2. Bei Verlängerung der Immersion auf 6 Tage, und bei Verwendung 3proz. Gelatine konnte man deutlich das Trypsin bis zur Verdünnung von 1 : 67000 ungefähr nachweisen, und nach 4 Tagen auch jene zu 1 : 200000.

Die Gelatine zu 5% war nach 2 Tagen nur in der Lösung von ungefähr 1 : 23000 aufgelöst, aber nach 4 Tagen wurde sie vollständig aufgelöst. Man kann daher den Schlufs ziehen, dafs beim Verlängern der Immersion des Fibrins in der Trypsinlösung während 6 Tage, und bei sorgfältiger Untersuchung der bei 20° aufbewahrten Kapseln nach 6—8 Tagen man das Trypsin bis 1 : 200000 nachweisen kann.

### V. Methode der flüssigen Gelatineröhrchen.[1])

Diese Methode, obwohl sie, wie wir sehen werden, jener der festen Gelatineröhrchen bei weitem nachsteht, kann jedoch dazu dienen, nicht nur die bloſse Anwesenheit eines Enzymes nachzuweisen, sondern auch für quantitative Untersuchung oder wenigstens für Vergleichsuntersuchungen, die geeignet sind, die verschiedentliche gelatinolytische Energie der verschiedenen Enzyme, der verschiedenen Lösungen der Enzyme selbst festzustellen usw.

Eine wirkliche und eigene quantitative Bestimmung ist, wie ich bereits in einer andern Arbeit schrieb und wie wir weiter unten sehen werden, noch nicht möglich.

Die Methode der flüssigen Gelatine kann in drei Verfahren geteilt werden. Die Methode ist weniger sicher als jene der Röhrchen, die Resultate sind oft kontradiktorisch, was eine Wiederholung der Versuche benötigt.

Das erste Verfahren besteht darin, das Quantitätsminimum des Enzyms festzustellen, welches eine gegebene Menge Gelatine in einer gegebenen Zeit und bei einer gegebenen Temperatur unerstarrbar machen kann.

---

1) Schon 1890, also vor fast 15 Jahren, veröffentlichte ich eine solche Methode der flüssigen Gelatine. Da nun aber Malfitano La protéolyse chez l'Aspergillus niger. Ann. Pasteur XIV 60 1900 unter der Leitung Duclaux' diese Methode als seine eigene veröffentlichte, ohne sie auch nur zu erwähnen, was jedem zustoſsen kann, und der den Irrtum nicht einsehen wollte, was auch sehr häufig geschehen kann, so sehe ich mich gezwungen, hier folgende Stelle meiner früheren Arbeit: »I fermenti peptici e diastatici dei microorganismi S. 20« anzuführen:

»Versuch XXIII. Wirkung des Enzyms des V. Finkler-Prior, des Trypsin und des Papains auf die Gelatine. Die Wirkung des V. Finkler-Prior, des Trypsin und des Papains, bei einer Temperatur von 50° C, wurde auch auf Gelatine versucht. Ich nahm zwei Thymolgelatine-Röhrchen, goſs in ein jedes 1 ccm Kultur des Priorschen Vibrions, in zwei andere 1 ccm einer Trypsinlösung 1 : 500 und in noch zwei andere dieselbe Menge einer Papainlösung. Zwei Gelatineröhrchen mit Thymollösung ohne Enzym dienten zum Vergleiche. Hierauf brachte ich die acht Röhrchen in den Ofen auf 50° C und nach Verlauf von 24 Stunden lieſs ich sie abkühlen. Die Gelatine, welche sich in den Röhrchen mit Enzym befand, blieb flüssig, die der beiden anderen, ohne Enzym, erstarrte.

Beschreibung. In 6 mm weite Röhrchen mit Gelatine zu 2—3—5% giefst man verschiedene, regelmäfsig zunehmende Mengen der Enzymlösung. Die Proben wurden auf 30° gebracht; nach einem oder auch nach 15 oder 30 Tagen, je nachdem, nimmt man die Röhrchen aus dem Ofen und läfst sie 24 Stunden lang bei 10° C. Der feste oder flüssige Zustand der Gelatine in den verschiedenen Röhrchen läfst die kleinste Dosis des Enzyms erkennen, die noch fähig ist, der Gelatine die Erstarrungsfähigkeit zu nehmen.

**Versuch I.**

In Röhrchen, welche ½ ccm Gelatine zu 2%, mit Soda zu 2% enthielten, gofs ich 0,05—0,3 ccm Trypsin Grübler zu 1:800 000, 1:900 000 bis 1:1 000 000 und so fort bis 1:1 400 000. Die Proben wurden in den Ofen gebracht und nach 3 Tagen, nachdem die Röhrchen zur Abkühlung gebracht wurden (24 Stunden lang bei 10°), erhielt ich folgendes Resultat:

| Menge der Trypsinlösung | Trypsinlösungen | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1:800 000 | 1:900 000 | 1:1 000 000 | 1:1 100 000 | 1:1 200 000 | 1:1 300 000 | 1:1 400 000 |
| 0,05 | 0 | 0 | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 0 | 0 | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 0 | 0 | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0,1 | + | 0 | 0 | 0 | + | 0 | + |
| | 0 | 0 | 0 | 0 | + | 0 | + |
| | 0 | 0 | 0 | 0 | + | 0 | + |
| 0,15 | + | + | + | 0 | + | 0 | 0 |
| | + | + | + | 0 | + | 0 | 0 |
| | 0 | + | + | 0 | + | 0 | 0 |
| 0,2 | 0 | + | + | + | + | 0 | 0 |
| | 0 | + | + | + | + | 0 | 0 |
| | 0 | + | + | + | + | 0 | 0 |
| 0,25 | + | 0 | + | 0 | + | 0 | 0 |
| | + | 0 | + | 0 | + | 0 | 0 |
| | + | 0 | + | 0 | + | 0 | 0 |
| 0,3 | + | 0 | 0 | + | + | 0 | 0 |
| | + | 0 | 0 | + | + | 0 | + |
| | + | 0 | 0 | + | + | 0 | + |

Diese Tabelle zeigt:

1. Dafs man auch mit dieser Methode der flüssigen Gelatineröhrchen Verdünnungen bis 1:1 400 000 nachweisen kann, dafs aber die Methode bedeutend weniger sicher ist als die der Röhrchen mit fester Gelatine.

**Versuch II.**

In Röhrchen, welche 1 ccm flüssige Gelatine zu 3% und Natrium zu 1% enthielten, wurden verschiedene Quantitäten einer frischen, mit 5‰ Karbolsäure bereiteten Trypsinlösung (Grübler) von 1 : 1000000 bis 1 : 1600000 gegossen. Die Proben wurden dann in eine Temperatur von 30° gebracht.

Nach 48 Stunden wurden die Proben aus den Ofen genommen und in ein Wasserbad von 10° getaucht.

Nach 15 Stunden wurde folgendes Resultat erzielt:

| Trypsinlösung (Grübler) | 0,1 ccm | | 0,2 ccm | | 0,3 ccm | | 0,4 ccm | | 0,5 ccm | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 Probe | 2 Probe | 1 Probe | 2 Probe | 1 Probe | 2 Probe | 1 Probe | 2 Probe | 1 Probe | 2 Probe |
| 1 : 1000000 | 0 | 0 | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 1 : 1200000 | 0 | 0 | 0 | 0 | + | + | + | + | + | + |
| 1 : 1400000 | 0 | 0 | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 1 : 1600000 | 0 | 0 | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Kontrollprobe: Karbolsäurelösung 1%, ohne Trypsin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | + | + | + | + |

Resultat: 1. Der Zusatz von 0,4 und 0,5 ccm einer einfachen Karbolsäurelösung zu 1% verhinderte der allzugrofsen Verdünnung halber die Erstarrung der Gelatine.

2. Infolge dieser Tatsache lassen wir natürlich die mit 0,4 und 0,5 ccm der verschiedenen Trypsinlösungen erhaltenen Resultate, wo der Verlust der Erstarrungskraft der Gelatine der aufserordentlichen Verdünnung derselben zuzuschreiben ist.

Infolgedessen kommen wir in diesem Falle zu dem Schlufs, dafs die Methode der flüssigen Gelatine die Empfindlichkeit von 1 : 1400000, sowie auch die von 1 : 1600000 erreichte.

3. Nachdem sämtliche Röhrchen sogleich wieder in den Ofen bei 30° gebracht worden waren, fand man sie alle nach 9 Tagen verflüssigt, mit Ausnahme der Kontrollröhrchen, welche 0,1 ccm Karbolsäure enthielten.

In diesem Falle ist der Verlust der Erstarrungskraft der Gelatine der verlängerten Temperatureinwirkung zuzuschreiben.

Wenn man also mit schwachen Gelatinelösungen von 1—3% experimentiert, kann der Verlust der Erstarrungskraft einfach von der verlängerten Temperatureinwirkung herrühren.

Es ist demnach ratsam, die Proben nicht länger als 24—48 Stunden in einer Temperatur von 30° zu halten, die Kontrollproben nicht zu vergessen und stets zwei- oder dreimal soviel Proben zu machen, ohne mit der Zahl der Röhrchen zu sparen.

Übelstände:

1. Ist es notwendig, oft eine überaus grofse Anzahl von Röhrchen zur Verfügung zu haben. Da es sich in der Tat darum handelt, die aktive minimale Quantität vieler Enzyme gleichzeitig festzustellen (wie dies häufig geschieht, indem man die Wirkung zahlreicher physisch-chemischer Faktoren auf dieselben studiert), würden mehrere Hunderte von Röhrchen, d. h. eine weit gröfsere Zahl als jene, welche meine feste Gelatine-Röhrchen-Methode erfordert, notwendig sein.

2. Anstatt die Resultate innerhalb 3—6 Tagen zu erlangen, wie dies mit dieser Methode der Fall ist, müfste man oft wochenlang warten, denn kleine Mengen oder sehr schwache Enzyme erfordern diese Zeit.

3. Anderseits verlieren die wochenlang bei 30° erhaltenen Enzyme ihre Kraft. Hingegen kann weder die Menge noch die Konzentration über eine gewisse Grenze hinaus vermindert werden, weil sie nicht mehr erstarrt.

4. Die Methode ist weniger sicher als jene der festen Gelatineröhrchen, die Resultate widersprechen sich oft, was die Wiederholung der verschiedenen Versuche bedingt.

II. Verfahren. Man stellt fest, wieviel Gelatine von einer gegebenen Menge Enzyme in einer bestimmten Zeit und bei einer bestimmten Temperatur unerstarrbar machen können.

Beschreibung. In Röhrchen von verschiedenen, stets zunehmenden Mengen Gelatine von 1—20 ccm gieſst man 0,1—1 ccm Enzymlösung und bringt sie in den Ofen. Nach

einer gewissen Zeit (5—10—30 Tage) werden sie 24 Stunden lang in 10—11° warmes Wasser gebracht und dann entnimmt man die Resultate.

Übelstände: Es sind dies dieselben wie bei der vorigen Methode, a) allzulange Dauer des Versuchs, b) Schwächung der Enzyme, c) Notwendigkeit zahlreicher Röhrchen.

III. Verfahren. Dasselbe besteht im Feststellen der zum Verlust der Erstarrungskraft einer gegebenen Menge Gelatine durch eine bestimmte Menge Enzym notwendigen Zeit.

Beschreibung. In Röhrchen, die 1 ccm Gelatine zu 2—3—5% enthielten, gießt man 0,1—0,5 der enzymhaltigen Flüssigkeit und bringt sie in eine Temperatur von 30°.

Jede halbe Stunde werden sie aus dem Ofen genommen, und in Wasser zu 10° getaucht. Erstarrt die Gelatine, so wird das Röhrchen wieder in den Ofen und dann wieder nach einer halben Stunde in Wasser zu 10° gebracht. So fährt man fort, bis die Gelatine die Eigenschaft, zu erstarren, verloren hat. (1)

**Versuch.**

In Röhrchen, die 1/2 ccm neutrale Gelatine zu 30% flüssig enthielten, goß ich verschiedene Quantitäten Merkschen Trypsin 1:5000, schüttelte sie gleichmäßig, indem ich ganz genau 10 mal die Röhrchen umstürzte und brachte sie sodann in den Thermostaten zu 30°. Anfangs beobachtete ich alle 5 Stunden, dann alle 24 Stunden, ob die Gelatine ihre Erstarrungskraft verloren oder behalten hat, indem ich die Röhrchen 5—24 Stunden lang in 10° warmes Wasser tauchte. Der Aufenthalt der Röhrchen im Wasser zu 10° nur während 1/4 oder 1/2 Stunde, wie dies Duclaux tat, führt leicht zu irrtümlichen Resultaten, denn oft erstarrt die Gelatine nur nach 5—10, ja selbst 24 Stunden. Dies, wiederhole ich, ist ein großer Übelstand dieser Methode. Die erhaltenen Resultate sind:

| Trypsin 1:5000 ccm | Verflüssigung in Tagen | Trypsin 1:5000 ccm | Verflüssigung in Tagen |
|---|---|---|---|
| 0,05 | 0 mm | 0,3 | — mm |
| 0,1 | 0 » | 0,35 | 16 » |
| 0,15 | 0 » | 0,4 | 20 » |
| 0,2 | 0 » | 0,45 | 28 » |
| 0,25 | 20 » | 0,5 | 28 » |

1) Beim Gebrauch gewöhnlicher Pronvetten wird die Gelatinemenge auf 5—10 ccm gebracht und auch dementsprechend die Menge der Enzymlösung.

Aus dieser Tafel geht hervor:

1. Dafs selbst nach 28 Tagen 0,2 ccm Trypsin nicht fähig waren, ½ ccm Gelatine zu 30% die Erstarrungsfähigkeit zu rauben.

2. Dafs hingegen 0,25 zu 0,15 ccm in 20—28 Tagen aufgelöst haben.

Aufserdem ist es nicht leicht zu erklären, wie Quantitäten Trypsin von 0,25—0,4, schneller verflüssigt haben, als gröfsere Quantitäten (0,41—0,5). Diese Unregelmäfsigkeit bildet natürlich einen grofsen Mangel dieser Methode.

Ohne die anderen Versuche mit 10proz. Gelatine anzuführen, teile ich sogleich die Resultate mit.

1. Alkalische Gelatine zu 10%, 0,05—1 ccm, wird in 24 Stunden durch 0,05 ccm Merkscbes Trypsin 1:5000 aufgelöst.

2. Gelatine zu 10%, sowohl neutrale als alkalische, 0,05—1 ccm, wird durch 0,05 ccm Merksches Trypsin 1‰ aufgelöst in 10—21 Tagen.

3. 10proz. Sodagelatine wird durch 0,05 ccm einer 36 Tage vorher zubereiteten Trypsinlösung in 7 Tagen bis 0,7 ccm und in 19 Tagen bis 1 ccm aufgelöst.

4. 1 ccm neutraler Gelatine zu 10% wird in 3—5 Tagen durch 0,1 ccm Merksches Trypsin 1‰ aufgelöst.

5. 1 ccm neutraler Gelatine zu 10% wird unter 0,7 (0,1—0,7) durch eine Lösung Grübler-Trypsin 1:200000 in 22 Tagen aufgelöst, über 0,5 (0,5—1 ccm) hingegen in 24 Stunden.

6. 1 ccm Gelatine 5%, Natron 2% wird in 4 Tagen durch 1 ccm Merksches Trypsin 1:200000 und in derselben Zeit durch ½ ccm einer Lösung zu 1:100000 aufgelöst.

7. 0,1 Merksches Trypsin zu 1:200000 löst 1 ccm neutraler Gelatine zu 5% in 11 Tagen auf, während es durch dieselbe Quantität (0,1) einer Trypsinlösung zu 1:400000 nicht aufgelöst wird.

8. ½ ccm Gelatine zu 3%, Natron 2%, wird durch über 0,3 einer Merkschen Trypsinlösung zu 1:400000 in 3 Tagen aufgelöst und von 0,1—0,5 in ungefähr 10 Tagen.

Die gleiche Quantität Gelatine zu 2% wird hingegen durch 0,5—1 ccm auch in 3 Tagen aufgelöst.

Das dritte Verfahren, das das schlechteste von allen drei ist, wurde von Malfitano unter Duclaux Leitung angewandt.

Malfitano verfährt folgenderweise:

1. Er mischt 10 ccm Kultur mit 5 ccm Gelatine zu 20% (!) welche 2% kristallisiertes Thymol enthält.

2. Schmilzt bei niedriger Temperatur, schüttelt und bewahrt die Proben bei 35°. Nach 10—20 Stunden bringt er sie zur Erstarrung bei 15° während 15—30' und so wiederholt er den Versuch von Zeit zu Zeit bis die Gelatine beständig flüssig bleibt.

Der Grund, aus welchem ich besonders das dritte Verfahren aufgab, war:

1. Wollte man mit einer gewissen Genauigkeit den Augenblick angeben, in welchem die Gelatine die Erstarrungsfähigkeit verliert, so müfste man die Proben aus dem Ofen herausnehmen und sie bei 10°—15° abkühlen lassen.

Hierzu wäre es unumgänglich notwendig, stets einen Thermostaten von 35° und ein Bad zu 10—11° bereit zu haben, was natürlich nicht zugunsten einer gröfseren Einfachheit dieser Methode spricht, wie Malfitano es möchte.

2. Der Experimentierende würde sich grofsen Opfern unterziehen müssen, um die Röhrchen, Tag und Nacht, wenigstens jede Stunde aus dem Ofen ins Bad zu bringen. Abgesehen von der schwierigen Arbeit, die auch die Anzahl der Versuche vermindert, begreift man leicht, wie man vergessen kann, die Proben zur richtigen Zeit zu behandeln und wie man sich somit grofsen Irrtümern aussetzt.

3. Nun verliert aber die Gelatine bei dem verschiedenen Wechseln immer etwas von der Erstarrungsfähigkeit, was auch folgender Versuch beweist:

**Verminderung der Eretarrungefähigkeit der Gelatine infolge wiederholten Überganges aus dem festen in den flüssigen Zustand.**

Prouvetten, von gleichem Durchmesser (10,5 mm) welche Gelatine zu 10% mit Karbolsäure zu 0,5% enthalten, werden nach und nach, in eine Temperatur von 37° und 15° gebracht, um abwechselnd die Gelatine zum Erstarren oder zum Verflüssigen zu bringen, und dies 50mal, nämlich 10mal im Tage. Eine gewisse Anzahl Prouvetten, welche dieselbe Gelatine enthalten, werden indessen mittels Stöpsel mit luftdichtem Verschlufs gegen das Auftrocknen geschützt.

Nachher gofs ich 1—2 ccm von einer Trypsinlösung zu 1% sowohl in die Prouvetten, welche die 50mal flüssig gewordene Gelatine enthielt, als in jene, die zur Kontrolle dienten.

Nach je dreitägigem Messen der aufgelösten Gelatineschicht erhielt ich folgendes Resultat.

| | Nach 3 Tagen | | Nach 6 Tagen | | Nach 9 Tagen | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 ccm Trypsin 1‰ | 2 ccm | 1 ccm | 2 ccm | 1 ccm | 2 ccm |
| Mehreremal (50) verflüssigte Gelatine: | | | | | | |
| 1. Probe . . . . . | 5 | 9 | 6 | 10 | 15 | 17 |
| 2. Probe . . . . . | 5 | 9 | 6 | 10 | 15 | 17 |
| Kontrolle: | | | | | | |
| 1. Probe . . . . . | 3 | 7,25 | 4 | 8 | 12 | 13 |
| 2. Probe . . . . . | 3 | 8 | 4 | 8 | 12 | 13 |

Resultat: Aus diesem Versuche ersieht man, dafs die wiederholt verflüssigte Gelatine viel leichter verflüssigungsfähig ist als die Kontrollproben, so dafs nach drei Tagen das Verhältnis gleich 5 zu 3 ist.

Nach einer gewissen Zeit, wenn das Enzym nicht mehr auf die Gelatine wirkt und wenn diese zum grofsen Teile die Erstarrungskraft verloren hat, geschieht es, dafs dieselbe bei 15° nicht mehr in wenigen Minuten erstarrt, wie Malfitano es möchte, sondern erst nach 10—24 Stunden. Dies zeigt sich besonders, wenn es sich um wenig tätige Enzyme handelt, oder wenn kleine Quantitäten derselben im Verhältnis zur Gelatine angewandt wurden, wie dies meistens geschieht.

In diesen Fällen kommt es dann vor, wie man leicht begreift, dafs, wenn zur Erstarrung der Gelatine 10—24 Stunden notwendig sind, die genaue Berechnung der Stunden, in welchen die Fluidifikation stattgefunden hat, unmöglich ist.

Duclaux und Malfitano mufsten nicht weniger als 24—36 Tage auf die Resultate ihrer Forschungen warten. Und diese Autoren betrachteten als besonderen Vorzug dieser Methode (so dafs sie dieselbe jener der feste Gelatine-Röhrchen-Methode vorzogen) die Schnelligkeit, mit welcher man die Resultate erlangt!

Ich hingegen kann in wenigen Stunden, höchstens in 2—3 Tagen das Resultat erkennen, und jedermann kann wahrnehmen, auch beim blofsen Durchlesen meiner Arbeiten, dafs die Aktivität des Enzyms monatelang fortdauert.

Die Autoren wollen einen grofsen Übelstand in meiner festen Gelatinmethode gefunden haben, weil man mit derselben die Proben bei Zimmertemperatur halten mufs, die aber unbeständig ist.

Hätten sie meine Arbeiten etwas aufmerksamer durchgelesen, so würden sie sich diesen Irrtum erspart haben, denn ich schrieb, dafs wenn man lange und delikate Versuche anstellen will, man die Proben in einem Thermostaten von 20—22° aufbewahren mufs. Aufserdem wiederhole ich noch, dafs das Aufbewahren der Proben bei 35°, besonders bei der von den Verfassern erfundenen Methode gefährlich ist, da hierdurch die Enzyme geschwächt werden.

Ich komme daher zu dem Schlusse, dafs meiner Ansicht nach die Verfasser keine neue Methode erfunden haben, sondern dafs sie nur die Geschicklichkeit gehabt haben, die schlechteste meiner drei Methoden, die ich bereits verworfen hatte, zu rehabilitieren.

In dieser Hinsicht auch, obwohl etwas geheim und anstatt Duclaux zu erinnern, dafs das Bekritteln der Arbeiten anderer, ohne sie mit der nötigen Aufmerksamkeit gelesen zu haben, nicht ratsam ist, begnügte ich mich, ihm nur eine Stelle meiner Arbeit zu übersenden und ihm in höflichster Weise mitzuteilen, dafs ich schon vor vielen Jahren auch die Methode der flüssigen Gelatine beschrieben habe, und dafs ich eine Berichtigung wünsche.

Das Verlangen einer zweiten Berichtigung scheint den geistreichen Kritiker gelangweilt zu haben, denn anstatt direkt zu antworten, wie er es früher getan, benutzte er sein Traktat und vielleicht auch seinen Namen, um seine irrtümliche Kritik wieder aufzunehmen, indem er in reichlicher und traurigster Weise die gröfste Ignoranz in bezug auf die angegriffene Arbeit und eine Heftigkeit dem Verfasser gegenüber bewies.

In diesem Traktat drückt Duclaux sich folgendermafsen aus:

»Comme M. Fermi a constamment tablé sur leur identité, comme il a en outre souvent négligé de faire ses essais en double (sic), l'un sur le liquide diastasifere, l'autre sur le même liquide bouilli, de façon à voir si l'action observée était ou non une action diastasique, il est difficile de faire, dans la science une place a ses resultats!

Wirklich halte ich es für überflüssig zu beweiseu, dafs sowohl die erste wie auch die zweite dieser Behauptungen vollständig falsch sind, und dafs auf den lächerlichen Schlufs, in welchem Duclaux in zu kindischer Weise die Repressalien durchschauen läfst, verschiedene Verfasser, die über die Fermente geschrieben, schon geantwortet haben.

In bezug auf die beiden Vorwürfe, die Duclaux mir macht, erwidere ich nur, dafs es falsch ist, dafs ich die Identität der gelatinolytischen Enzyme mit dem Trypsin beständig behauptet habe, denn absichtlich habe ich mich nie mit dieser Frage beschäftigt, ebenso falsch ist es, wenn er sagt, ich habe die Kontrollproben vernachlässigt, denn wenn irgend etwas in meinen Forschungen in die Augen springt, so glaube ich, sind es gerade die Kontrollversuche, auf die ich stets und ich glaube, fast pedantisch gesehen habe. Es genügt, nur einen Blick auf meine erste Arbeit über die Fermente (die peptischen und diastatischen Fermente der Mikroorganismen Giornale della R. A. di med. di Torino 1890. Heft 1—2) zu werfen, um die Behauptung Duclaux beurteilen zu können.

Schon auf den ersten Seiten wird man in der Tat finden, dafs ich nicht nur das Kochen angewandt habe, wie Duclaux mir anratet, um die Keime zu entfernen und so das Vorhanden-

sein der Enzyme zu beweisen, sondern dafs ich auch zu verschiedenen anderen Mitteln meine Zuflucht genommen habe, was übrigens aus den blofsen Titeln der verschiedenen Versuche hervorgeht, wie z. B.

a) Versuch 1 (Seite 3) Vernichtung der direkten Tätigkeit der Mikroben mittels Sublimat.

b) Versuch 2. (Seite 4) Vernichtung der direkten Tätigkeit der Bakterien mittels Karbol und Salicylsäure.

c) Versuch 3 (Seite 5) Vernichtung der direkten Tätigkeit der Mikroben mittels Chlorwasserstoffsäure.

d) Versuch 7 (Seite 7) Vernichtung der Tätigkeit der Bakterien mittels fraktionierter Sterilisierung.

e) Versuch 15 (Seite 14) Wirkung verschiedener Temperaturen auf die Fermente (50—60—70—140°).

Hätte Duclaux noch darauf geachtet, dafs die von mir angewandte Gelatine antiseptisch war durch Hinzufügung von Karbolsäure, Thymol etc., so würde er einen besseren Punkt gewählt haben, mich anzugreifen.

## VI. Die Alkalialbuminate als neue Reagentien der proteolytischen Enzyme.

Es war von grofser Wichtigkeit, ein der höchsten Serie dieser Substanzen angehörendes Albuminoid zu finden, welches erstarrt und, der Wirkung des zu studierenden Enzyms unterworfen, uns erlauben würde, die Proben in einer Temperatur über 30° zu bewahren.

Um zu diesem Ziele zu gelangen, hätte ich natürlich ein flüssiges und erstarrungsfähiges Albuminoid, wie z. B. das Blutserum oder das Eiereiweifs wählen müssen; diese beiden Substanzen liefern, wie sie sind, kein empfindliches Reagens um das Vorhandensein sehr schwacher, proteolytischer Enzyme, wie man sie sowohl im Pflanzen- wie im Tierreiche sehr verbreitet findet, zu beweisen. Das von mir, glaube ich, zum ersten Male in der Röhrchenmethode angewandte erstarrte Blutserum bildet trotz seiner Fähigkeit, durch verschiedene mikrobische Enzyme verflüssigt zu werden, immerhin ein Reagens, das viel weniger

empfindlich ist (über 1000 Mal) als die Gelatine; ohne von dem geronnenen Eiereiweifs zu sprechen, welches, wie man weifs und wie auch ich wiederholt bewiesen habe, wenn es als Pepsinreagens (Methode Mette) und als Trypsinreagens dienen kann, vorausgesetzt, dafs es sehr tätig ist, gar nicht oder ungenügend auf die Tätigkeit der zahlreichen Serie der oben erwähnten schwachen Enzyme einwirkt.

Ich kam daher auf den Gedanken, einige Abänderungen vorzunehmen, besonders in bezug auf das Eiereiweifs, Abänderungen, welche dem mir vorgesteckten Ziele entsprechen würden. Auf diese Weise kam ich auf die alkalischen Albuminate und versucht mit Ammoniak, kohlensaurem Natron und mit Atzkali. Die in dieser Hinsicht angestellten Versuche waren sehr verschiedenartig und zahlreich, wie man aus dem nachstehenden Überblick wahrnehmen kann.

1. Versuche mit Eiereiweifs, welches mit Ammoniak, kohlensaurem Natron und Kali behandelt war.

2. Versuche mit Blutserum vom Ochsen und vom Schweine.

3. Versuche in bezug auf den Einflufs, der auf das Alkalialbuminat ausgeübt wird, wenn es eine gewisse Zeit (24 Stunden lang) in einer Temperatur von 30° bleibt, bevor es zur Gerinnung gebracht wird.

4. Versuche, um die passende Temperatur und die Dauer derselben zu bestimmen, um die beste Erstarrung zu erlangen.

5. Versuche, die geeignet sind, den Einflufs festzustellen, welchen das Schütteln oder Nichtschütteln des Eiweifses und die Mischungen des Eiweifs oder des Serums mit den Alkalien auf die Erstarrung der Albumine ausübt.

Anstatt die Resultate eines jeden Versuches zu wiederholen, führen wir dieselben zusammen am Schlusse dieses Kapitels.

### Versuche mit Eiereiweifs.

#### Versuch 1.

Gut geschlagenes und dekantiertes Eiereiweifs, welchem 0,5 % Karbolsäure zugefügt wurde, verteilte ich in Prouvetten von einem Kaliber von 10,5 mm in der Menge von 5 ccm pro Stück.

Hierauf fügte ich in vier dieser Prouvetten, welche das Eiweifs enthielten, 1—2—3—4 ccm Ammoniak, bei anderen vier die gleichen Propor-

tionen einer kohlensauren Natronlösung zu 20%, während ich vier anderen 0,5—1—1,5—2 ccm einer Lösung Ätzkali zu 10% beifügte.

Die zwölf Prouvetten wurden dann mit vier Kontrollprouvetten, welche anstatt des Alkali nur 1—2—3—4 ccm Wasser enthielten, 30 Minuten lang in ein Wasserbad zu 70° gebracht.

| Ammoniak konz. | | | | Kohlensaures Natron 20% | | | | Ätzkali 10% | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 ccm | 2 ccm | 3 ccm | 4 ccm | 1 ccm | 2 ccm | 3 ccm | 4 ccm | 0,5 ccm | 1 ccm | 1,5 ccm | 2 ccm |
| dicht und durchsichtig | dicht und durchsichtig | weich und durchsichtig | flüssig und durchsichtig | dicht und undurchsichtig | dicht und undurchsichtig | dicht und durchsichtig | dicht und durchsichtig | dicht und durchsichtig | dicht und durchsichtig | weich | flüssig |

## Empfindlichkeit der erlangten Eiereiweifs-Albuminate dem Trypsin gegenüber.

Jetzt blieb uns noch übrig, zu versuchen, ob wir mit den erhaltenen Albuminaten ein Reagens zur Verfügung hatten, welches für die Forschungen in bezug auf die proteolytischen Enzyme geeignet wäre. In einem ersten Experimente versuchte ich demnach mit einer Trypsinlösung zu 5‰. Am 25. Mai gofs ich in die Prouvetten, welche die festen und durchsichtigen Albuminate erhielten, 1 ccm einer Trypsinlösung zu 5‰, brachte sie dann in einen Ofen zu 30° und mafs von Zeit zu Zeit die Schicht des aufgelösten Albuminats.

Das Resultat war:

| Zahl der Tage | Ammoniak | | Kohlensaures Natron 20% | | | | Ätzkali 10% | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 ccm | 2 ccm | 1 ccm | 2 ccm | 3 ccm | 4 ccm | 0,5 ccm | 1 ccm |
| 2 | 4 mm | 15 mm | 4 mm | 5 mm | 7 mm | 6,5 mm | 6 mm | 5 mm |
| 3 | 6,5 » | 18 » | 8 » | 11 » | 10 » | 11 » | 8,5 » | 8 » |
| 5 | 10 » | 24 » | 11 » | 9 » | 11 » | 13 » | 17 » | 30 » |
| 6 | 12,5 » | 29 » | 16 » | 13 » | 15 » | 13,5 » | 22 » | |
| 11 | 17 » | 32 » | 24 » | 18 » | 20 » | 30 » | 30 » | |

## Versuche mit Blutserum.

### Versuch 1.

Blutserum mit 5—10—15—20—25% Ammoniak wurde in Röhrchen verteilt. Diese wurden, nachdem sie 24 Stunden lang bei 35° gehalten waren, 30 Minuten lang in ein Wasserbad zu 70° gebracht. Hierauf wurde die Empfindlichkeit probiert, indem man 1 ccm Merksches Trypsin 1‰ in dieselben gofs; dann wurden sie in den Ofen auf 35° gebracht.

Beim Messen der allmählich aufgelösten Gelatineschicht ergab sich folgendes Resultat:

| Ammoniak | Verflüssigte Schicht in | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 8 Tagen | 10 Tagen | 12 Tagen | 34 Tagen |
| | mm | mm | mm | mm |
| 5 % | 7 | — | — | 7 |
| 10 » | 7½ | 9 | 11½ | 18 |
| 15 » | 11 | 13 | 15 | 24 |
| 20 » | 22 | 26 | 30 | 41 |
| 25 » | 0 | 0 | 0 | 0 |

**Versuch 2.**

Nach Wiederholung des Versuchs ergab sich folgendes Resultat:

| Ammoniak | 3 | 15 | 18 | 19 | 20 | 22 | 30 | 34 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | mm | mm | mm | mm | mm | mm | mm | mm |
| 5 % | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 10 » | 5 | 13½ | 15 | 17 | 9 | 11 | 26 | — |
| 15 » | 3½ | — | — | — | 13 | — | 18 | 20 |
| 20 » | 3 | 8 | 9 | 10 | 12 | 17 | 21 | — |
| 25 » | 6 | 23 | 25 | 27 | 30 | 31½ | 37 | 43 |

**Versuch 3.**

Derselbe Versuch wurde wiederholt, indem ich anstatt des Ammoniaks Ätzkali zu 0,5—1,5 % anwendete.

Folgende Tabelle gibt die Resultate:

| Kalilauge | 3 | 6 | 17 | 19 | 21 | 25 | 31 | 32 | 33 | 35 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | mm | mm | mm | mm | mm | mm | mm | mm | mm | mm |
| 0,5 % | 4 | 12 | 17 | 22 | 24 | 27 | 30 | 32 | 34½ | 37 |
| 1 » | 3 | — | — | 8 | 11 | — | — | — | — | — |
| 1,5 » | 5 | 10 | 15½ | 18½ | 20 | 22 | 24 | 26 | 28½ | 30 |
| 2 » | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 2,5 » | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |

**Versuch 4.**

Das folgende Experiment beweist, dafs, wie ich bereits in bezug auf das Fibrin[1]) bewiesen habe, sich das Blutserum des Ochsen und jenes des Schweines beständig sehr verschiedentlich verhalten, so dafs beide voneinander unterschieden werden können. Auf gewöhnliche Weise zubereitete Mischungen von Ochsenserum und Ammoniak in bekannter Proportion wurden in Mengen von 1 ccm in Röhrchen gegossen. Dieselben wurden

1) Claudio Fermi, Die Auflösung des Fibrins durch Salze etc. Zeitschr. f. Biol., Vol. XXVIII.

dann zur Verdichtung gebracht und ich gofs 1 ccm Merksches Trypsin 1 : 1000 darauf. Nach 12 Tagen wurde die flüssige Schicht gemessen.

Als Resultat ergab sich:

| Ammoniak | Ochsenserum | | Schweineserum | | Eiereiweifs | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Erstarrung | Verflüssigung | Erstarrung | Verflüssigung | Erstarrung | Verflüssigung |
| 5 % | + | 1 | + | 5 | + | 0 |
| 10 » | + | 9 | + | 11 | + | 0 |
| 15 » | + | 14 | 0 | 0 | + | 2 |
| 20 » | + | 25 | 0 | 0 | + | 6 |
| 25 » | + | 26 | 0 | 0 | + | 0 |

**Versuch 5.**

Ochsenblutserum wurde mit einer Lösung Karbolsäure (0,5 %) im Verhältnis zu 20—40 % verdünnt und mit der optima Dosis von Ammoniak, dieses zu 4 %, alkalisiert und in Röhrchen verteilt. Diese, 30 Minuten lang auf 70° erwärmt, erstarrten ganz und gar nicht.

**Empfindlichkeit des alkalischen Ochsen- und Schweineblutserums.**

Nach diesen Versuchen war es von Interesse, die verschiedene Empfindlichkeit dieser drei Alkalialbuminate den Enzymen gegenüber festzustellen.

Zu diesem Zwecke gofs ich 1 ccm von einer Lösung Trypsin (Merk) in verschiedene Konzentrationen in Röhrchen, die 1 ccm der drei erstarrten Alkalialbumine enthielten. Die erhaltenen Resultate folgen in nachstehender Tabelle:

| Albuminate | Verflüssigung durch Trypsin | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 1 : 1000 | 1 : 3000 | 1 : 5000 | 1 : 6000 | 1 : 7000 |
| Blutserum v. Ochsenblut + Ammoniak 20 % | + | + | + 0 | ? | 0 |
| Blutserum v. Schweineblut + Ammoniak 5 % | + | + | + 0 | 0 | 0 |
| Eiereiweifs 20 % . . . . . | + | 0 | 0 | 0 | 0 |

**Einfluss der Aufbewahrung der Alkalialbumine 24 Stunden lang bei 30° Wärme, bevor es zur Koagulation gebracht wird.**

Um diese Frage zu lösen, machte ich die beiden folgenden Versuche.

**Versuch 1.**

Ich bereitete eine Mischung von Serum und Ammoniak, sowie eine von Serum und Ätzkali in den schon versuchten Proportionen und verteilte

sie zu je 1 ccm in Röhrchen. Einen Teil derselben brachte ich sofort zur Erstarrung in einem Wasserbade von 70°, 30 Minuten lang, den anderen Teil erst, nachdem sie 24 Stunden lang in einem Ofen bei 30° gewesen waren.

Hierauf goſs ich 1 ccm Trypsin Merk zu 1‰ in die erstarrten Röhrchen. Nach 7 Tagen ergab sich folgendes Resultat:

| Ammoniak | Geronnen nach 24 Stunden | | Sogleich geronnen | |
|---|---|---|---|---|
| | Erstarrung | Verflüssig. | Erstarrung | Verflüssig. |
| | | mm | | mm |
| 5 % | + | 7 | + | 25 |
| 10 » | + | 7,5 | 0 | |
| 15 » | + | 11 | 0 | |
| 20 » | + | 22 | 0 | |
| 25 » | + | 26 | 0 | |

**Versuch 2.**

Das Experiment wurde wiederholt wie oben, indem anstatt des Ammoniaks Kalilauge angewendet wurde.

Das nach 4 Tagen erlangte Resultat war:

| Kalilauge | Zur Erstarrung nach 24 Std. gebracht | | Zur Erstarrung sofort gebracht | |
|---|---|---|---|---|
| | Erstarrung | Verflüssig. | Erstarrung | Verflüssig. |
| 0,5 % | + | 4 | + unregelmäfsig | 4 unregelmäfsig |
| 1 » | + | 3 | + unregelmäfsig | |
| 1,5 » | + | 5 | 0 | |
| 2 » | 0 | | 0 | |
| 2,5 » | 0 | | 0 | |

**Betreff der Alkalialbuminate erhaltene Ergebnisse.**

Eiereiweifs: 1. Die Ammoniakalbuminate zu 20 und 40% $NH^3$ zeigten sich sehr durchsichtig und fest, so dafs sie vollständig dem Zwecke entsprechen, während die zu 60% stets zu weich blieben und für uns unbrauchbar waren, obwohl sie immer ein durchsichtiges, bernsteinfarbiges Albuminat bildeten.

2. Kohlensaures Natron 20%. Die Versuche mit 1—2 ccm Soda 20% zu 5 ccm Eiereiweifs gaben stets ein festes aber undnrchsichtiges Albuminat. Hingegen entsprachen besser die mit 3 und 4 ccm. Diese gaben ein festes und durchsichtiges Albuminat, welches aber stets dem mittels Ammoniak und Kalilauge erzielten nachstand.

3. Ätzkali. Ein gutes, festes und durchsichtiges, schön bernsteinfarbiges Albuminat erzielten wir mit 0,5—1 ccm Kalilauge zu 5 ccm Eiereiweifs, während jenes mit 1,5 zu weich und jenes mit 2 ccm fast flüssig war.

Die besten Resultate in bezug auf die physischen Merkmale, d. h. der Durchsichtigkeit und der Festigkeit erhielten wir mit 1—2 ccm Ammoniak resp. 20 bis 40% und mit der Kalilauge von 0,5—1%.

Starr, aber weniger durchsichtig war hingegen das Albuminat, welches wir mittels kohlensauren Natrons erlangten.

4. Die besten Resultate, nicht nur in Hinsicht auf die Empfindlichkeit des Reagens, d. h. die Schnelligkeit, mit welcher es durch das Trypsin aufgelöst wird, sondern auch in bezug auf die fortschreitende Regelmäfsigkeit der Auflösungsschicht erzielten wir mit dem Ammoniak. Dieses im Verhältnis von 40% (2 ccm auf 5 Eiweifs) hat an Schnelligkeit im Auflösen anfangs dreimal und dann zweimal jenes mit 20% Ammoniak (1 ccm auf 5 Eiweifs) übertroffen.

5. In Hinsicht auf die Regelmäfsigkeit der Fluidifikation haben die erwähnten Ammoniakalbuminate die durch kohlensaures Natron und Ätzkali erhaltenen übertroffen; in den mit kohlensaurem Natron bemerkte man nach 10—11 Tagen eine sehr unregelmäfsige Verflüssigung und zwar in allen Proben, und das Kalialbuminat (0,5 ccm auf 5 Eiweifs) gerann sonderbarerweise am 11. Tage und das, zu 1 ccm auf 5 Eiweifs, hatte sich schon nach 3 Tagen ganz aufgelöst.

6. Was die Schnelligkeit der Verflüssigung der Albuminate mit kohlensaurem Natron betrifft, so fand man weder einen bedeutenden noch beständigen Unterschied, mochte dasselbe in Proportionen von 1 oder 2, 3, 4 ccm einer 20proz. Lösung auf 5 ccm Eiweifs zubereitet werden.

7. Dasselbe zeigte sich bei den zwei Albuminaten mit Ätzkali (0,5—1 ccm einer 10proz. Lösung auf 5 ccm Eiweifs) in den ersten zwei Tagen wenigstens, denn am 3. Tage war das Albuminat von 1 ccm auf 5 ccm, wie schon gesagt, gänzlich aufgelöst.

8. Demnach wäre das empfindbarste Albuminat, d. h. das, welches am schnellsten zur Verflüssigung gebracht werden kann, jenes, welches mit 20proz. Ammoniak zubereitet wird.

**Blutserum.** 1. Der Zusatz des Ammoniak zum Serum, im Verhältnis von 5%, vermehrt um etwas die Empfindlichkeit dem Trypsin gegenüber.

2. Das Maximum der Empfindlichkeit erzielt man mit 25%, doch kommt es bisweilen vor, dafs das Serum nicht erstarrt, oder nur ungenügend und unregelmäfsig.

3. Der Prozentsatz des Ammoniak, der das Serum empfindlich macht, indem es demselben zu einer durchsichtigen Gelatine zu erstarren erlaubt, ist jener von 15—20%.

4. Auch der Verlauf der Verflüssigung vollzieht sich ziemlich regelmäfsig, einen Monat hindurch. Die Kalilauge gibt wie das Ammoniak eine feste und durchsichtige Gelatine, die dem Trypsin gegenüber bedeutend empfindlicher ist als das natürliche Serum, aber nur im Verhältnis von 0,5—1,5%, d. h. in einem zehnmal geringeren Verhältnis als das Ammoniak.

5. Das Schweineblutserum verliert die Erstarrungsfähigkeit mit einer 4—5mal geringeren Menge Ammoniak, als jene ist, die noch die Erstarrung des Ochsenserum

erlaubt. Aufserdem erstarrt es aus noch unbekannter Ursache bisweilen nur mit einem Ammoniakgehalt zu 10 und auch zu 15%, doch seltener, zu 20—25% aber nie.

6. Anderseits ist das Schweineserum mit 5% Ammoniakgehalt, d. h. mit jener Menge, die ihm noch erlaubt zu erstarren, weniger empfiudlich als das Ochsenserum, welches dieselbe Menge Ammoniak enthält.

Das Albumin, welches dieselbe Menge Ammoniak als das Ochsenserum enthält, erstarrt vollständig wie dieses, doch ist es dem Trypsin gegenüber weniger empfindlich.

7. Das Ochsenserum mit 20% Ammoniak, der Dosis optima entsprechend, ist stets empfindlich einer Trypsin-(Merk)lösung 1:3000 gegenüber.

Bald positive, bald negative Resultate gab eine gröfsere Verdünnung des Trypsins von 1:5000 und 1:6000, während man fast beständig negative Resultate mit einer gröfseren Verdünnung des Trypsins erhielt.

8. Das Schweineblutserum, welches 5% Ammoniak enthielt, die einzige Dosis, die manchmal ein positives Resultat erzielte, gab meistens negative Resultate. Mit gröfseren Trypsinverdünnungen waren die Resultate beständig negative.

9. Das Eiweifs gab stets negative Resultate, selbst mit einer Trypsinlösung von 1:3000.

10. Die drei nicht alkalisierten Albuminate, auch von 1‰, gaben beständig negative Resultate.

Das Ammoniakserum erstarrt und verflüssigt sich viel schneller und regelmäfsiger, wenn die Mischung vor dem Gerinnen 24 Stunden lang in einem Ofen bei 30° bleibt.

11. Das Schütteln oder Nichtschütteln des Eiweifses vor dem Hinzufügen des Alkali ist fast ohne Bedeutung, da man ebenfalls ohne Schütteln ein festes und durchsichtiges Albuminat erhält.

12. Von grofser Wichtigkeit hingegen ist das gute Schütteln der Mischung. Denn während man beim tüchtigen Schütteln ein gleichmäfsig festes und durchsichtiges Albuminat erhält, so ist das, welches nicht geschüttelt wird, unregelmäfsig fest oder sogar ganz flüssig, wenn man nur einmal die Prouvette umkehrt.

13. Läfst man die Mischung 30' lang bei 70°, so erhält man ein gutes Albuminat, hingegen ist dies nicht der Fall, wenn sie nur 15' in derselben Temperatur bleibt.

Diese Albuminate können sowohl bei den Röhrchen- wie auch bei den Schalenmethoden angewandt werden. In letzterem Fall giefst man eine Schicht von 1 ccm flüssigen Albuminates in eine Schale, bringt dieselbe in eine Temperatur von 70°, zu welchem Zwecke man den Kochschen Apparat zur Erstarrung des Blutserums anwendet, welcher genau wagrecht gesetzt wird. Sodann sät man auf die Oberfläche des erstarrten Albuminates die Materialstückchen, in denen man das Enzym sucht und zwar in geordneter Weise und den gleichmäfsig nebeneinander auf den Boden der Schalen geklebten Angaben entsprechend.

### VII. Die Empfindlichkeit der Gelatine, des Fibrins, des einfachen, verdünnten und ammoniakalischen Blutserums, des Kaseins und des Eiweifses in vergleichender Weise studiert.

Um die Empfindlichkeit der Gelatine hervorzuheben und dieselbe besser beurteilen zu können, wollte ich sie mit dem Fibrin, dem Blutserum, dem Eiweifs und dem Kasein vergleichen.

Ich stellte daher folgende Versuche an:

#### A. Empfindlichkeit des Fibrins.

**Versuch 1.**

Ich lasse hier die Tabelle folgen, welche die Resultate eines meiner vor vielen Jahren angestellten Versuche wiederbringt.

| Trypeinlösung | Schicht der aufgelösten Gelatine | Fibrin ½ g pro Probe |
|---|---|---|
| 1 : 1000 | 6 mm | gänzlich aufgelöst |
| | 6 » | gänzlich aufgelöst |
| 1 : 2000 | 4,5 » | gänzlich aufgelöst |
| | 4,5 » | gänzlich aufgelöst |
| 1 : 4000 | 4 » | gänzlich aufgelöst |
| | 4 » | unvolletändig aufgelöst |
| 1 : 8000 | 3 » | nicht aufgelöst |
| | 3 » | unvollständig aufgelöst |
| 1 : 16000 | 2 » | nicht aufgelöst |
| | 2 » | nicht aufgelöst |
| 1 : 32000 | 0,5 » | nicht aufgelöst |
| | 0,6 » | nicht aufgelöst |

Resultat: Die Gelatine war also in diesem Falle achtmal empfindlicher als das Fibrin.

**Versuch 2.**

In Prouvetten, welche 5 ccm Merksches Trypsin in verschiedenen Verdünnungen (1:100 000, 50 000, 33 000, 25 000, 20 000, 16 000, 14 000, 12 000, 11 000, 10 000) enthielten, wurden frische Fibrinflöckcheu von Ochsenblut gelegt. Diese Prouvetten wurden dann in einem Ofen bei 30° aufbewahrt. Nach 6 Tagen war das Fibrin noch unverändert.

Ich wiederholte dasselbe Experiment mit Ochsenfibrin, welches in Glyzerin aufbewahrt war (und was fast immer empfindlicher ist) und erhielt dasselbe Resultat.

Dieses Experiment wiederholte ich, indem ich Fibrin vom Schweine anwandte, das, wie aus meinen anderen Versuchen hervorgeht, bedeutend empfindlicher ist als jenes des Ochsen, und auch als jenes des Pferdes und des Schafes, doch blieb das Resultat das gleiche. Das Trypsin 1:1000 hält sich unversehrt auch 6 Tage lang.

**Versuch 3.**

Ich wiederholte denselben Versuch mit einer Trypeinlösung von 1 : 10000 bis 1 : 5000 und erlangte nach 8 Tagen ein gänzlich positives Reeultat.

Wir kommen daher zu dem Schlusse, dafs sowohl das Ochsenfibrin, wie jenes vom Schweine in der Lösung von circa 1:8000 dem Trypsin gegenüber am empfindlichsten ist.

Auch wenn die Empfindlichkeit des Fibrins in Gegenwart von noch energischeren Trypsinpräparaten die oben angegebene Grenze übersteigen und dieses Enzym auch bei 1:15000, einer Grenze der Empfindlichkeit, die ich nie erreicht habe, noch zu entdecken wäre, so würde die Empfindlichkeit doch immer 70mal geringer sein als die der Gelatine zu 2—3%, Natron zu 1—2%, da diese, wie wir bewiesen haben, bis zu einer Lösung von 1:1400000 empfindlich ist.

Auch die folgenden Betrachtungen sprechen gegen das Fibrin und zugunsten der Gelatine.

2. Um die Anwesenheit eines proteolytischen Enzyms mittels Fibrin nachzuweisen, sind wenigstens 10—20 ccm Flüssigkeit zu den Untersuchungen erforderlich, während hingegen 1 ccm, ja sogar auch ½ ccm mit der Gelatine hinreicht.

2. Mit der Gelatine kann man ganz genau die Wirkung des Enzyms beobachten und messen.

3. Selbst bei langer, monatelang andauernder Wirkung der Enzyme auf die Gelatine kann man den Verlauf beobachten. Dieses ist nicht möglich bei dem Fibrin, die Fermente bei 30° bis 40° verlieren schnell ihre Kraft und haben auf dasselbe keine Wirkung mehr.

4. Mit der Gelatine kann man viel leichter die aktiven, physisch-chemischen Agentien auf die Enzyme studieren als mit dem Fibrin. Dies ist mit dem Fibrin nicht möglich, da diese Substanzen einerseits das Fibrin zusammenziehen und es weniger löslich machen, anderseits die Enzyme so schwächen, dafs sie nicht mehr auf das Fibrin wirken.

Mit der Gelatine genügt zum Unterschiede von dem, was mit dem Fibrin geschieht, das einfache Kriterium der Verflüssigung, da Spuren von Verflüssigung hinreichend sind, mit Gewifsheit die Anwesenheit eines Enzyms nachzuweisen.

5. Anderseits können die Gelatineröhrchen tage-, ja sogar monatelang mit allerlei organischen Flüssigkeiten wie Urin, Milch, bakterische Massen usw., welche Antiseptica enthalten und auf 100° erwärmt sind, erhalten werden, ohne dafs nur eine Spur von Verflüssigung wahrzunehmen sei.

Das Fibrin hingegen löst sich auch mit verschiedentlicher Schnelligkeit auf, je nach der Gattung des Tieres dem es angehört, und zwar in sauren Flüssigkeiten wie auch in alkalischen und neutralen. Deutschmann (1) fand, dafs das Ätzkali, 5‰ das Fibrin der Ratte in 30', das des Meerschweinchens, des Huhnes, des Lammes, der Ente, der Gans, der Taube in 45—60' auflöst, während jenes des Hundes, der Katze, des Schweines, des Ochsen, des Menschen, mehrere Stunden erfordert.

Green[2]) konstatiert, dafs das Fibrin des Schafes sich im Natriumchlorid zu 10% auflöst.

Gautier[3]) und Hammarsten[4]) weisen die Lösbarkeit des Fibrins in den Salzen nach.

Auch ich[5]) fand beim Studium der Solubilität des Fibrins in den Säuren, dafs das Fibrin vom Schweine sich in HCl 5‰, in wenigen Stunden auflöst. Weniger auflösbar ist das vom Schafe und vom Pferde, noch weniger aber das vom Ochsen.

Auch diese Unterschiede der Solubilität des Fibrins, welche nicht nur von Tier zu Tier verschieden sind, sondern sogar wechseln, je nachdem sie vom Arterienblute oder vom Venenblute, von dem oberen Teile oder von dem unteren des Gerinnsels herstammen, sprechen nicht zugunsten der Sicherheit dieses Reagens im Forschen nach den proteolytischen Enzymen.

### B. Empfindlichkeit des Blutserums.

Ich untersuchte die Sensibilität des Blutserums, vom Ochsen und vom Schweine. Zu diesem Zwecke verteilte ich das Serum in Mengen von je 1 ccm pro Röhrchen und brachte es zur Erstarrung ½ Stunde lang in ein Wasserbad von 70°. Nachdem die obere Grenze des Serums angezeichnet war, gofs ich 1 ccm

1) Beiträge zur Kenntnis des Blutfaserstoffes.

2) Natriumchlorid bei der Lösung von Fibrin. Jahresber. d. Tierchemie, XVIII, 76, 1888.

3) Lösliches Albumin durch die Spaltung des Fibrins. Compt. rend., 27. Juni 1874.

4) Faserstoffgerinnung. Jahresber. d. Tierchemie, 25, 1875.

5) Zeitschr. f. Biologie, XXVIII. Die Auflösung des Fibrins durch Salze und verdünnte Säuren.

Trypsin in der Verdünnung von 1:1000—2000—3000—4000—5000 in die Röhrchen; nach 10 Tagen wurde die aufgelöste Serumschicht gemessen und man fand nur Spuren einer Verflüssigung in den Röhrchen mit Trypsin von 1:1000 und zwar $^1/_2$ mm und 1 mm.

### C. Empfindlichkeit des verdünnten Blutserums.

Da man, um die Empfindlichkeit der Gelatine zu steigern, dieselbe in verschiedenen Konzentrationen (3—5—10%) zubereiten kann, wollte ich sehen, ob es möglich wäre, die Empfindbarkeit des Serums und des Eiweifses zu vermehren, durch verschiedengradige Verdünnungen, ohne dafs sie ihre Erstarrungskraft einbüfsten.

**Versuch 1.**

Ich bereitete verschiedene Verdünnungen von Serum und Eiweifs in Prouvetten, verteilte sie in Röhrchen und brachte diese sodann zur Erstarrung 30 Minuten lang in ein Wasserbad von 70°. Hierauf gofs ich in die geronnenen Röhrchen 1 ccm Trypsin Merk zu 1‰ und liefs sie 14 Tage lang bei 30° stehen. Das Resultat war:

| Verdünnungen | | | | | | | Erstarrung | Verflüssigung |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Serum | 4 ccm | + | Karbolsäurelösg. | 1 ccm | | | + | 0 |
| » | 3 » | + | » | 1 » | | | + | 0 |
| » | 2 » | + | » | 1 » | | | + | 0 |
| » | 1 » | + | » | 1 » | | | + | 0 |
| » | 1 » | + | » | 1 » | | | + | 0 |

Das bis zum Zweifachen seines Volumens verdünnte Serum gerann noch, nahm aber nicht sichtlich an Empfindlichkeit zu.

**Versuch 2.**

Ich wiederholte dasselbe Experiment, indem ich das Serum mit Glyzerin in den gleichen Proportionen anstatt mit Karbolsäurelösung verdünnte und erhielt das folgende Resultat:

Resultat: Keines der Röhrchen gerann nachdem sie in das Wasserbad gebracht worden waren. Das Glyzerin ist also nicht geeignet zu diesem Zwecke.

### D. Empfindlichkeit des Eiweifses.

Da das geronnene Eiweifs bedeutend empfindlicher ist dem Trypsin als dem Fibrin gegenüber, so verglich ich mit bedeutend konzentrierteren Trypsinlösungen und zwar zu 1:5000—1:4000—1:3000—1:2000—1:1000.

In diesem Zwecke legte ich in eine jede dieser Prouvetten, welche 5 ccm benannter Lösung enthielten, einen Würfel von geronnenem Eiweifs, der 5 mm pro Seite mafs, sowie ein viereckiges Stück, dessen Seiten 5 mm und die Höhe nur 1 mm mafsen und brachte die Proben in eine Temperatur von 30°. Selbst nach 15 Tagen erzielte ich ein fast vollständig negatives oder unregelmäfsiges Resultat, denn während in fast allen Proben die Würfel sich vollständig unversehrt erhalten hatten, war das dünnere Stück aufgelöst, doch konnte man dem keinen Wert zuschreiben, da die Auflösung in unregelmäfsiger Weise vor sich ging ohne zu einem Schlufs zu führen; so hatte man z. B. eine Auflösung bei 1:2000, während sie ausblieb bei 1:1000 und 1:500.

Man kann deswegen hieraus schliefsen, dafs das Eiweifs, auch angenommen, dafs es dem Trypsin gegenüber in der Lösung von 1:500 empfindlich sei, ungefähr 2800mal schwächer wirkt als die Gelatine, deren Empfindlichkeit, wie wir gesehen haben, bis auf 1:1 400 000 kommen kann.

### E. Empfindlichkeit des Kaseins.

Ich vollzog dieses Experiment in derselben Weise wie die vorigen, indem ich die Eiweifswürfel und Stückchen durch Würfel und Parallelepipedons von Schweizerkäse ersetzte, der infolge früher von mir vorgenommener Versuche sich als für ähnliche Versuche als am geeignetesten gezeigt hatte, da er sich am leichtesten zerschneiden läfst und sich nicht in einer unwirksamen Flüssigkeit (Wasser) auflöst, wie das bei dem Fontinakäse geschieht, während er dem Trypsin und dem Pepsin gegenüber einer der empfindlichsten ist.

Resultat: Die Prouvetten wurden alle 5 Tage untersucht, und ich konnte feststellen, wie dies auch beim Eiweifs der Fall war, dafs die Auflösung einiger der dünneren Stücke unvollständig vor sich ging bei einer Lösung von 1:5000 bis 1:2000, dafs die Auflösung nur vollständig wurde in jener von 1:1000.

Demnach ist hieraus zu schliefsen, dafs die Empfindlichkeit des versuchten Kaseins ungefähr 1400 mal geringer ist als jene der Gelatine.

Ich wiederholte den Versuch mit Ricotta (Molkenkäse), und sah, dafs dieser bedeutend empfindlicher ist als der Schweizerkäse, und zwar so, dafs er sich auch in einer Trypsinlösung von ungefähr 1:5000 auflöst. Demnach wäre die Ricotta 280 mal weniger empfindlich als Gelatine.

### F. Empfindlichkeit der Muskelu.

Ich wiederholte den Versuch mit Muskelstückchen von gleicher Gröfse als jene, die ich für das Eiweifs anwandte. Noch nach 4 Tagen waren die Muskelstückchen unversehrt; die Empfindlichkeit der Muskeln dem versuchten Trypsin gegenüber ist also geringer bei 1:1000.

### G. Empfindlichkeit der Mischung verschiedener Albuminate.

Ebenfalls wollte ich sehen, ob beim Mischen verschiedener Albuminate, z. B. Serum mit Eiweifsserum + Gelatine zu 20 %, in verschiedenen Proportionen, sich die Erstarrungsfähigkeit dieser Mischungen bei der Hitze erhalte und ob ihre Empfindlichkeit den proteolytischen Enzymen (Trypsin) gegenüber zu- oder abuehme.

**Versuch 1.**

Ich mischte verschiedene Proportionen der drei oben genannten Eiweifsstoffe in Pronvetten, verteilte die Mischung in Röhrchen in Mengen von je 1 ccm, untersuchte dann die Erstarrung in der Wärme und ihre Empfindlichkeit den Enzymen gegenüber, indem ich in die Röhrchen, in denen die Erstarrung stattgefunden hatte, 1 ccm Trypsin Merk zu 1 ‰ tat und brachte sie in eine Temperatur von 30°.

Nach 4 Tagen erhielt ich folgendes Resultat:

| | Erstarrung | Verflüssigung |
|---|---|---|
| Eiweifs p. 1 ccm + Serum p. 4 ccm | + | 0 |
| » » 1 » + » » 3 » | + | 0 |
| » » 1 » + » » 2 » | + | 0 |
| » » 1 » + » » 1 » | + | |

**Versuch 2.**

Der Versuch wurde wiederholt, indem ich Serum mit Gelatine mischte; das Resultat war:

| | Erstarrung | Verflüssigung |
|---|---|---|
| Serum 4 ccm + Gelatine 0,5 ccm | + | 0 |
| » 3 » + » 0,5 » | + | 0 |
| » 2 » + » 0,5 » | + | 0 |
| » 1 » + » 0,5 » | + | 0 |

Resultat: Diese beiden Experimente zeigen, dafs die Mischungen von Serum und Eiweifs (auch von 1 : 4), von Serum und Gelatine (1 : 1½) noch regelmäfsig erstarrten, aber dafs die Empfindlichkeit den Enzymen gegenüber nicht zunimmt.

**Vergleichende Tabelle der Empfindlichkeit der verschiedenen Reagentien älterer und neuerer Methoden den proteolytischen Enzymen gegenüber.**

Die folgende Tabelle gibt die ungefähre Maximalgrenze der Empfindlichkeit der verschiedenen Methoden und Verfahren bei den Untersuchungen des Trypsins an.

| Reagentien | Empfindlichkeit | Superiorität der Gelatine von |
|---|---|---|
| 1. Gelatine 2—3%, Natron 2%: | | |
| a) Röhrchenmethode . . . . . | 1 : 1 400 000 | — |
| b) Methode der flüssigen Gelatine . . | 1 : 1 000 000 | — |
| c) Methode der Extraktion mittels Fibrin | 1 : 200 000 | — |
| 2. Ochsenfibrin . . . . . | 1 : 8000 | 120 mal |

| Reagentien | Empfindlichkeit | Superiorität der Gelatine von |
|---|---|---|
| 3. Ochsenserum mit Ammoniak . . . . | 1 : 5000 | 280 mal |
| 4. Eiweifs mit Ammoniak . . . . . | 1 : 800 | 1750 » |
| 5. Kasein . . . . . | 1 : 1000—5000 | 1400—280 mal |
| 6. Ochsenserum (einfach) . . . . . | 1 : 1000 | 1400 mal |
| 7. Ochsenserum verdünnt . . . . . | 1 : 1000 | 1400 » |
| 8. Serumgelatine . . . . . | 1 : 1000 | 1400 » |
| 9. Kaninchenmuskel . . . . . | 1 : 1000 | 1400 » |
| 10. Eiweifs . . . . . | 1 : 500 | 2800 » |
| 11. Mischung von Serum und Eiweifs . . | 1 : 500—800 | 2800—1750 mal |

## Zusammenfassung.

1. Mit der Methode der festen Gelatineröhrchen kann die Empfindlichkeit der Gelatine bis 1 : 1 400 000 gelangen, mit jener der flüssigen Gelatineröhrchen bis 1 : 1 000 000, während sie mittels der Extraktionsmethode, mittels Fibrin und mittels der Gelatineplattenmethode ein Maximum von 1 : 200 000 erreichen kann.

2. Die Empfindlichkeit der so zubereiteten Gelatine übertrifft 120mal jene des Ochsenfibrins, 280mal jene des Ochsenserums mit Ammoniak ($NH^3$ 20%); 280—1400 mal jene des Kaseins (je nach der Sorte) 1400 mal das Ochsenserum und die Muskeln (von Kaninchen) und endlich 2800 mal das geronnene Eiweifs.[1])

3. Das Fibrin übertrifft ungefähr 2mal das Blutserum des Ochsen, mit Ammoniak ($NH^3$ 20%); 2—14 mal das Kasein, (je nach der Sorte); 14 mal die Muskeln von Kaninchen und 24 mal das Eiweifs.

4. Das versuchte Kasein (je nach der Sorte) erwies sich als 1—7 mal geringer als das Ammoniakserum, und gleich bzw. 4 mal besser als das einfache oder verdünnte Ochsenblutserum, die Serumgelatine und die Muskeln und 1—9 mal besser als das einfache Eiweifs.

1) Das geronnene Eiereiweifs (Mettsche Methode) ist daher zum Nachweis des Trypsins nicht zu empfehlen.

5. Das Ochsenserum mit Ammoniak zeigte sich 7mal besser als das einfache oder verdünnte Ochsenserum, die Serumgelatine und die Kaninchenmuskeln, und ungefähr 15mal besser als das Eiweifs, einfach oder mit Blutserum vermischt.

6. Die Verdünnung des Serums oder des Eiweifses vermehrt die Empfindbarkeit den Enzymen gegenüber nicht, wie dies hingegen bei der Gelatine sich zeigt.

## VIII. Uber die Möglichkeit der quantitativen Bestimmung der proteolytischen Enzyme.

Da die Gelatine ein so empfindliches und sicheres Reagens ist, um die Anwesenheit eines Enzyms zu beweisen, könnte man glauben, dafs sie auch zu einer quantitativen Bestimmung dienen könnte. Doch ist dies, wie wir sehen werden, nicht der Fall. Eine wirkliche quantitative Bestimmung ist gegenwärtig noch unmöglich.

Das einzige, was man erreichen könnte, wäre eine quantitative Bestimmung der gelatinolytischen Wirkung einer enzymhaltigen Flüssigkeit im Verhältnis zu jener eines bekannten Enzymes, wie z. B. eines bestimmten Trypsinpräparates.

Solange wir nicht imstande sind, die Schwächung zu kennen, welcher die Enzyme ausgesetzt sind, können wir von keiner Methode in bezug auf die quantitative Bestimmung derselben reden.

An welche Methode könnten wir in der Tat denken, um quantitativ ein proteolytisches Enzym nachzuweisen?

Es würden deren nur zwei sein: die erste wäre, das Ferment aus der Flüssigkeit zu präzipitieren, die dasselbe enthält, es zu isolieren und dann zu wiegen.

Doch sind wir noch nicht in der Lage, die Fermente vollständig zu isolieren, und wenn dies auch möglich wäre, so würden die unausbleiblichen Verluste, die den langen Operationen folgen, die Resultate fast allen Wertes berauben.

Die zweite Methode wäre, die Aktivität einer gegebenen gelatinolytischen Flüssigkeit auszudrücken, indem man sich auf

die der Lösung eines bekannten Enzymes bezieht, z. B. eines gegebenen Trypsinpräparates. Man müfste hierzu eine Tabelle herstellen, welche die Quantitäten oder die in einer bestimmten Zeit, in einer bestimmten Temperatur durch eine gegebene Quantität einer Reihe von Lösungen der obengenannten Enzyme aufgelösten Gelatineschichten darstellen. Will man die Wirkung einer gegebeneu gelatinolytischen Flüssigkeit feststellen, so müfste man denselben Versuch mit derselben wiederholen und so könnte man sagen: die gegebene Flüssigkeit hat eine Aktivität, die der der Trypsinlösung gleich ist, z. B. zu 1:10000 etc.

Dicse Methode wäre einfach und sicher, wenn man mit sehr reinen Enzymen arbeiten oder wenn man quantitativ und qualitativ die Unreinlichkeit der verschiedenen Präparate kennen könnte, also ihren Inhalt an einem reinen Enzyme. Leider können wir aber nur mit Mischungen von qualitativ und quantitativ unbekannten Substanzen arbeiten. Es ist daher unmöglich, in Rede stehende Trypsinlösungen von einer genauen, bestimmten Konzentration bereiten zu können.

Der Wechsel der Aktivität des Trypsins von Tier zu Tier, vom Individuum zu Individuum, von Präparat zu Präparat trägt noch dazu bei, die Schwierigkeiten der Frage zu vermehren.

Infolgedessen ist es nicht möglich von einer genauen Methode in bezug auf die quantitative Bestimmung der proteolytischen Enzyme zu reden. Wir müssen uns mit der ungefähren Bestimmung der proteolytischen Wirkung einer gewissen Quantität einer Enzym enthaltendeu Flüssigkeit mit der eines bekannten Enzyms verglichen, begnügen.

### Beschreibung der Methode.

Vor allem ist es notwendig, eine Tabelle zusammenzustellen, auf welcher man sehen kann, wieviel Millimeter Gelatine (Gelatine 5—10%) in Röhrchen von 5—6 mm Durchmesser von einer bestimmten Quantität der verschiedenen gelatinolytischen Enzyme in einer gegebenen Zeit (2—5 Tage) aufgelöst werden können. Will man nun ungefähr die gelatinolytische Tätigkeit einer gegebenen Flüssigkeit wissen, so hat man nur 1 ccm derselben in

ein Röhrchen von gleichem Durchmesser zu gieſsen, nach einer bestimmten Zeit die aufgelöste Gelatineschicht zu messen und dann zu sehen, welche Lösung auf der Tabelle der Zahl der gefundenen Millimeter entspricht.

Als Beispiel solcher Tabelle dienen folgende:

**Versuch 1.**

Man bereitete Trypsinlösungen von 1 : 1000, 1 : 2000, 1 : 4000 und goſs sodann von jeder derselben 5 ccm in ein Röhrchen; von jeder Lösung wurden zwei Proben gemacht. Nach 3 Tagen wurde die aufgelöste Gelatineschicht gemessen und es ergab sich folgendes Resultat:

| Trypsinlösung | Nach 3 Tagen | Trypsinlösung | Nach 3 Tagen |
|---|---|---|---|
| 1 : 500 | 10 mm<br>10 » | 1 : 4000 | 4 mm<br>4 » |
| 1 : 1000 | 6 »<br>6 » | 1 : 8000 | 3 »<br>3 » |
| 1 : 2000 | 4,5 »<br>4,5 » | 1 : 16 000 | 2,5 »<br>2,5 » |

Resultat: Wie man sieht, entsprechen sich die beiden Proben in befriedigender Weise.

**Versuch 2.**

Ein anderer Versuch einer solchen Tabelle wäre:

| Trypsinlösung | Nach 8 Tagen | Nach 16 Tagen |
|---|---|---|
| 1 : 1000 | 11 | 20 |
| 1 : 2000 | 8 | 15 |
| 1 : 5000 | 4 | 8 |
| 1 : 10 000 | 2 | 4. |

**Versuch 3.**

In Röhrchen von 6 mm Durchmesser, welche 1 ccm Gelatine zu 5% enthielten, goſs ich 1 ccm von den verschiedenen Trypsinlösungen und maſs dann von Zeit zu Zeit die aufgelöste Gelatineschicht.

Die Resultate befinden sich in nachstehender Tabelle.

| Mercksche Trypsinlösg. | Schicht der aufgelösten Gelatine nach | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 4 Tg. | 8 Tg. | 12 Tg. | 21 Tg. | 25 Tg. | 27 Tg. | 30 Tg. | 35 Tg. | 40 Tg. |
| 1 : 5000 | 7,5 | 10 | 14 | 17,5 | 20 | 38 | 40 | 41 | 43 |
| 1 : 6000 | 6,5 | 9,5 | 12,5 | 17,5 | 19 | 28 | 37 | 39 | 34,5 |
| 1 : 7667 | 6 | 9 | 11,5 | 16,5 | 18 | 27 | 30,5 | 32 | 33,5 |
| 1 : 11 000 | 5 | 8 | 10 | 14,5 | 16 | 22 | 29 | 30 | 36,5 |
| 1 : 11 526 | 4,5 | 7 | 9 | 14 | 15 | 21,5 | 28 | 29 | 32,5 |

| Merksche Trypsinlösg. | Schicht der aufgelösten Gelatine nach | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 4 Tg. | 8 Tg. | 12 Tg. | 21 Tg. | 25 Tg. | 27 Tg. | 30 Tg. | 35 Tg. | 40 Tg. |
| 1 : 12 111 | 4 | 6,5 | 8,5 | 12,5 | 13,5 | 19,5 | 22 | 21,5 | 25,5 |
| 1 : 12 765 | 4 | 6,3 | 8 | 11,5 | 12,5 | 18 | 20 | 22 | 23,5 |
| 1 : 13 500 | 4 | 6,2 | 8 | 11,5 | 12,5 | 18 | 19,5 | 21 | 22 |
| 1 : 14 333 | 3,5 | 6 | 7,5 | 11 | 12,5 | 17 | 19 | 20,5 | 21 |
| 1 : 15 286 | — | 5,5 | 7,2 | 10,5 | 12 | 16 | 18 | 19 | 19,5 |
| 1 : 16 384 | 3,25 | 5 | 7 | 10 | 10 | 15 | 17,5 | 18 | 19 |
| 1 : 17 667 | 3,15 | 5 | 7 | 10 | 10 | 14 | 16,5 | 17 | 19 |
| 1 : 19 182 | 2,75 | 4 | — | 8 | 9 | 14 | 15,5 | 16,5 | 18,5 |
| 1 : 21 000 | 2,5 | 4 | 6,5 | 8 | 8 | 13 | 15 | 16 | 17,5 |
| 1 : 23 222 | 2,5 | 4 | 6,25 | 8 | 8 | 12 | 14,5 | 15,5 | 17 |
| 1 : 26 000 | 2,2 | 3 | 5,25 | 7 | 7,5 | 12 | 14 | 15 | 17 |
| 1 : 29 571 | 2 | 3 | 4,5 | 6 | 7,5 | 12 | 14 | 15 | 17 |
| 1 : 34 333 | 2 | 3 | 4 | 6 | 7,5 | 11,5 | 13,5 | 15 | 16,5 |
| 1 : 41 000 | 1,25 | 3 | 4 | 6 | 7,5 | 11 | 13 | 15 | 16 |

Resultat: 1. Auch dieser Versuch beweist die Möglichkeit, eine Tabelle zusammenzustellen, welche die Wirkungsgröfsen der verschiedenen Trypsinlösungen enthält, auf der man den Energiegrad der Lösung eines anderen Enzymes vergleichen und ausdrücken kann.

2. Auch aus dieser Tabelle geht hervor, wie der Verlauf der Gelatinefluidifikation mittels Trypsin mit einer gewissen Regelmäfsigkeit vor sich gegangen ist, sowohl in bezug auf die verschiedenen Verdünnungen als auch in bezug auf die Dauer der Tätigkeit.

3. Nicht weniger interessant ist die Tatsache, dafs die Fluidifikation auch Monate hindurch fortdauert, ohne dafs die Erneuerung des Kontaktes bewirkt wird, was Duclaux für notwendig hielt.

Bei Anwendung dieser Methode wäre es nötig:

1. Röhrchen vom gleichen Kaliber zu benutzen, die zur selben Zeit mit derselben Gelatinelösung gefüllt und die zusammen unter gleichen Bedingungen erhalten werden.

2. Stets untereinander gleiche Quantitäten der Lösungen zu vergleichen.

3. Die zu untersuchende Flüssigkeit vor dem Experiment zu filtrieren.

4. Den Proben stets die gleiche Quantität derselben Antiseptika und nötigenfalls die gleiche Quantität färbende oder präzipitierende Substanz (Kohle etc.) hinzuzufügen.

5. Die Proben immer bei gleicher Temperatur zu halten.

6. Die Proben nicht zu schütteln oder in gleicher Weise und bei gleicher Dauer zu schütteln.

7. Für jede Probe bereite ich gewöhnlich 3—5 Röhrchen und ziehe das Endresultat aus dem Mittel der 3 oder 5 partiellen Resultate. Ein einziges Röhrchen für jede Probe kann oft zu unbrauchbare Ergebnisse führen.

# Über die Feuchtigkeit verschiedener Mauerarten.

Experimentelle Untersuchungen

von

Ing. **Riccardo Bianchini.**

Hygienisches Institut der Kgl. Universität Turin.
(Direktor: Prof. Dr. L. Pagliani.)

Die Feuchtigkeit der Mauern hat infolge ihrer weitgehenden Bedeutung für die Hygiene in der letzten Zeit zahlreiche geschickte Experimentatoren zu einem eingehenden experimentellen Studium dieser Frage geführt. Von v. Pettenkofer, der wohl der Erste war, der sich gründlich mit diesem Gegenstand beschäftigte, bis zu den letzten sorgfältigst angestellten Untersuchungen Dr. Paladino-Blandinis erstanden eine Reihe Methoden oder Modifikationen zu schon existierenden, mehr oder weniger einfachen Verfahren, die jedoch allesamt darauf hinausgingen, den Wassergehalt einer Mauer im allgemeinen zu bewerten.

Was jedoch die systematische Erforschung des Austrocknungsgrades der Mauern in Beziehung zu den verschiedenen Raumverhältnissen oder zur Beschaffenheit des zum Baue verwendeten Materials anbetrifft, existieren meines Wissens nur Studien von Lehmann, Nufsbaum, Gläfsgen, Bentler, De Rossi und Tursini.

Einige von diesen Forschern führten äufserst sorgfältige Untersuchungen darüber aus, wie sich die Feuchtigkeit gleichartig gelegener und gleichartig beschaffener Mauern in ungleichen

Temperaturverhältnissen (Lehmann, Nufsbaum) sowie in Beziehung zu verschiedener Aussetzung und verschiedener Höhe vom Erdboden (Gläfsgen) oder in ganz besonderen klimatologischen Verhältnissen (Bentler) gestaltet. Alle diese Forscher zogen jedoch die Mauer nur ganz im allgemeinen in Betracht, ohne bei ihren Untersuchungen auch Rücksicht auf die verschiedenen Materialien der Mauer selbst zu nehmen.

Von der Überzeugung ausgehend, dafs eine Untersuchung, die es sich zum Ziele setzt, die Austrocknung nicht gleichartig beschaffener Mauermassen in möglichst gleichen Raum-, Zeit- und Stärkeverhältnissen und in möglichst gleichen Beziehungen zu den äufseren Ursachen einem eingehenden Studium zu unterwerfen, ein nicht unbedeutendes Interesse haben kann, liefs ich in einem im Kellergeschofs des Hygienischen Instituts von Turin gelegenen Zimmer vier m $2 \times 2 \times 0{,}6 = \text{m}^3\ 2{,}40$ messende Mauern erbauen. Der Boden des Zimmers war vollständig mit Asphalt belegt und dieser letztere in gutem Zustande. Die Temperatur hielt sich, wie ich während der langen, den Untersuchungen gewidmeten Beobachtungszeit zu konstatieren Gelegenheit hatte, sowohl infolge der Lage des Zimmers wie auch infolge der Dicke der Umfassungsmauern in den verschiedenen Jahreszeiten ungefähr auf derselben Höhe. Da das Zimmer überdies fast stets geschlossen blieb, wies auch der hygrometrische Stand desselben nur äufserst geringe Schwankungen auf.

Unter solchen Verhältnissen konnten also die Mauern weder Wasser aufsaugen noch solches an den Boden abgeben. Sie konnten also in dieser Weise als herausgeschnittene Mauerblöcke der Hauptmauer einer gewöhnlichen Fabrik gelten.

Die vier Mauern bestanden aus Backsteinen, Steinmasse mit Backsteinbändern, gelochten Backsteinen und Beton. Die aus Backsteinen bestehenden Mauern waren mit gutem Mörtel erbaut worden, der sorgfältigst mit Kalk, Sand und Wasser erhalten worden war, und dessen Proportionen für alle Mauern dieselben waren. Die verwendeten Backsteine waren guter Qualität, wohl gebrannt und vor Verwendung stets bis zur Aufnahmeverweigerung gebadet. Für die gemischte Mauer diente eine

Steinmasse aus Gneis, der zuerst getrocknet worden war, um jedem möglichen Einflusse des Steinbruchwassers auf die Versuchsbestimmungen aus dem Wege zu gehen.

Die Mauern wurden nicht beworfen, sondern blofs gelassen, damit ich mir ein Urteil bilden konnte, wie sich eine der Luft ausgesetzte Mauer verhält ohne den Bewurf, welcher die Bedingungen des Versuchs geändert hätte. In Bezug auf die andern Versuchsbedingungen war ich bestrebt, jede störende Ursache auf ihr Minimum zu reduzieren, oder, soweit es möglich war, ganz auszuscheiden.

Alle 15 Tage nahm ich aus den Mauern eine Probe ab, wobei ich darauf bedacht war, dies bei allen vier Mauern nicht nur am selben Tage, sondern möglichst auch in derselben Stunde vorzunehmen, damit das Versuchsbild wirklich als ein in gleichen Raumverhältnissen gewonnenes gelten konnte.

Zur Bestimmung der Feuchtigkeit der Mauern bediente ich mich der Methode Pagliani[1]), die mich stets zu guten und genauen Ergebnissen führte. Diese Methode empfiehlt sich besonders durch ihre leichte Technik und die Einfachheit der verschiedenen Operationen. Mufste ich Hydratwasser bestimmen, so nahm ich die Methode Gläfsgen zu Hilfe. Nur erhitzte ich

1) Nachstehend die Methode Paglianis: Es wird eine 20—30 g wiegende Probe auf ein Soxhletsches Filter gegeben, das in einem passenden Filtriergefäfs ruht und zuvor mit ihm gewogen wird. Hierauf wird das Gewicht des Filters, des Filtriergefäfses und des aufgenommenen Materials festgestellt, um aus dem Unterschiede das genaue Gewicht des aufgenommenen, zum Versuch dienenden Materials zu erfahren. Nun wird das Material in einen Mörser gegeben, eine bestimmte Quantität absoluten Alkohols beigefügt und gut zerrieben, aber immer so, dafs das Material unter Alkohol verbleibt. Dann kommt das zerriebene Material mit dem Alkohol in ein Fingerhutfilter, der Mörser selbst wird vorsichtig mit anderem Alkohol gewaschen und auch dieser letztere auf dasselbe Filter gebracht — das dann auf einem passenden Filterträger ruht und im untereu Teile einen Hahn besitzt — und filtriert. Sodann wird das Filter mit dem Rückstandsmaterial in einen Exsiccator gebracht und so lange dort belassen, bis der kleine Rest Alkohol, der dort verblieben sein kann, ausgeschieden ist. Schliefslich wird ein letztes Mal Filtergefäfs, Filter und Material gewogen. Der Gewichtsunterschied, der sich nun zwischen erster und zweiter Abwägung ergiebt, kann nur von dem durch den Alkohol hervorgerufenen Wasserverlust des Materials herrühren.

dabei die Liebigsche Ente nicht über einer Gasflamme, sondern setzte sie in einen gewöhnlichen Trockenofen und brachte an den beiden Enden der Ente je 1 längere Glasröhre derart an, dafs sie aus den Wänden des Ofens hervorstanden.

Die aufserhalb des Ofens hervorgerufene $CO_2$-Strömung wird nun mit Hilfe einer der beiden Röhrchen mit dem Versuchsmaterial in Verbindung gebracht, das andere Röhrchen diente zum Ausflufs. Nachdem nun der Ofen erhitzt, las ich die Temperatur an einem Thermometer ab. Auf diese Weise konnte ich mit hohen Temperaturen arbeiten, ohne das Gefäfs einem Springen auszusetzen, was leicht vorkommt, wenn ihm die Flamme direkt zugeleitet wird. Damit dann während des Erkältens keine Feuchtigkeit von dem Versuchsmaterial aus dem Wasserdampf der Luft eingesaugt werde, schlofs ich die Ausflufsröhre für $CO_2$ luftdicht ab. Bei einem solchen Vorgehen konnte das Abwiegen auch an einem der nachfolgenden Tage vorgenommen werden, ohne dafs dadurch Fehler entstanden, was mir eine Reihe sorgfältigst durchgeführter Versuche bewies.

Die Versuchsprobe, auf die sich Fig. I bezieht, wurden stets in einer Tiefe von 20 cm, von der Aufsenfläche der Mauer abgerechnet, herausgenommen. Über die Wahl gerade dieser Tiefe werde ich mich in einem andern Teil dieser Arbeit näher auslassen.

Da aber infolge der zu grofsen Tiefe, in der ich arbeiten mufste, zur Herausnahme dieser Proben der Tursinische Mauerbohrer seine Dienste versagte, verwendete ich einen röhrenförmigen Meifsel aus härtestem Stahle. An einem Ende ist der Diameter besagter Röhre auf einer Länge von 10 cm bedeutend geringer, sie selbst läuft in einen äufserst scharfen Raud aus.

Ein volles Stäbchen aus weichem Eisen mit ringförmigem Schnitt und einem Aufsendurchmesser, der dem Innendurchmesser des engeren Teiles der Röhre gleichkommt, konnte in letzterer mit leichter Reibung laufen. Hatte ich sodann mit einem gewöhnlichen Meifsel die vorerwähnte Tiefe fast hergestellt, so führte ich an seiner Stelle den ringförmigen Meifsel ein und liefs ihn dann mit einigen Hammerschlägen in die ge-

wünschte Tiefe gelangen. Zog ich dann den Meifsel zurück, so enthielt dieser in seiner verengten Innenhöhlung eine gewisse Quantität Material, die mit Hilfe des Eisenstäbchens in das Filter im Filtergefäfs gestofsen wurde. Um äufserst genau vorzugehen, liefs ich jedoch vor Eingabe des Materials in das Filter zuerst eine kleine Quantität ausfallen, die ich wegwarf, wonach somit nur die Zentralpartien des Zylinders in das Filter gelangten, da ich überdies darauf bedacht war, auch den mit dem Eisenstäbchen in Berührung gekommenen Teil nicht zu verwenden. So kam also das Material mit der Atmosphäre nicht in Berührung, und unterlag die darin enthaltene $H_2O$-Quantität keiner Veränderung.

Tabelle I. gibt die Ergebnisse wieder, die auf Grund systematischer Beobachtungen mit den in vorerwähnter Weise alle 14 Tage herausgenommenen Proben der 4 Mauern in $2^1/_2$ Jahren erhalten wurden.

Aus der Fig. I kann man also zu den nachfolgenden Schlüssen gelangen:

I. Dafs die Biegungen der Kurven in der ersten Daseinsperiode eines Mauerwerks viel ausgeprägter sind, und dafs dies für alle Mauertypen gilt.

II. Dafs die Feuchtigkeit des Raumes nur dann auf die Feuchtigkeit der Mauer einwirkt, wenn die Mauer eine gewisse Trockenheit erlangt hat, und auch dann nur auf die Oberflächenschicht.

III. Dafs jeder Mauertypus auch bei gleichen Raumverhältnissen seine besondere minimale Feuchtigkeit besitzt, die man den eigenen Feuchtigkeitsgrad eines Mauerwerks nennen könnte.

IV. Dafs die Jahreszeiten wenig Einflufs auf den Trocknungsvorgang einer Mauer haben, wenn diese den Sonnenstrahlen entzogen ist, wie dies bei meinem Versuche der Fall war.

V. Dafs unter den im Versuche benutzten Mauertypen die Austrocknung zeitlich in nachfolgender Reihenfolge vor sich ging: Zuerst gelochte Backsteine, dann gemischtes Mauerwerk, gewöhnliches Mauerwerk und zuletzt Beton.

Das erhaltene und in der I. Konklusion zusammengefafste Ergebnis läfst sich leicht aus der bedeutenden zwischen Hygrometerstand der Mauermasse und dem der Luft bestehenden Differenz erklären. Mit anderen Worten trat da eine Erscheinung auf, die dem Wärmeaustausch zwischen zwei Körpern gleicht.

Diese Erklärung rechtfertigt auch das Ergebnis der II. Konklusion.

Nicht ganz so einfach ist eine Erklärung für die III. Konklusion. Da es sich bei meinen Bestimmungen immer um den

**Diagramme des Feuchtigkeitsverlaufs in den verschiedenen Schichten der vier verschiedenen Mauerarten.**

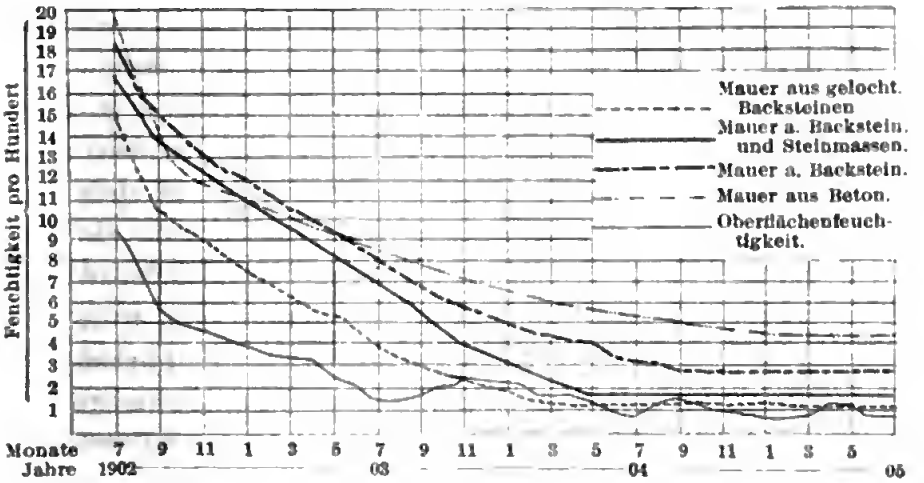



Fig. 1.

Freiwassergehalt des Materials handelte, so läfst sich die Erscheinung wohl mit der gröfseren oder geringeren Adhäsion erklären, die ein Material dem Wasser gegenüber besitzt. Zur Bestätigung dieser Konklusion entnahm ich dem Zentralteil der Backsteinbänder der Gemischten Mauer Proben, die mir genau dieselben Ergebnisse lieferten wie die Proben aus der vollen Backsteinmauer.

Die IV. Konklusion rechtfertigt sich in einfacher Weise, wenn man in Betracht zieht, dafs, was ich schon eingangs bemerkt habe, die Temperatur im Versuchsraum fast stets dieselbe

war. War also die Wasserdampfquantität des Raumes (hauptsächlich bedingt durch die Mauern) in den verschiedenen Zeiten ganz oder fast konstant (wie auf der Tafel die Kurve des Oberflächenhygrometerstandes besagt), so konnte auch die Spannungsdifferenz des Dampfes in den verschiedenen Jahreszeiten nur gering sein.

Es konnte somit auf Grund dessen, was ich schon in Konklusion I und II gesagt habe, auch in verschiedenen Jahreszeiten im besonderen Fall der künstlichen Bedingungen meiner Versuche, die Differenz zwischen der Wasserdampfspannung des Raumes und der der Mauer für fast oder ganz konstant gehalten werden, und so machte sich also der Verlust von $H_2O$ in der Mauer auch in den warmen Jahreszeiten nicht in gröfserem Mafse fühlbar.

Diese Erscheinung tritt nun freilich nicht ein, wenn eine Mauer den freien Luftströmungen ausgesetzt ist oder noch weniger, wenn sie direkt von den Sonnenstrahlen getroffen wird. Es soll jedoch hier nicht aufser acht gelassen werden, dafs sich unter den Verhältnissen meiner Versuchsmauern alle Innenmauern eines Gebäudes befinden, für die der Einfluſs der Winde oder der Sonnenstrahlen immer äufserst gering und sicherlich sehr partiell ist. Aus diesem Grunde glaube ich wohl behaupten zu dürfen, dafs die erhaltenen Ergebnisse von Bedeutung sind, indem sie vor allem ein Urteil abgeben über die hauptsächlichsten Bedingungen nicht nur des Mauerteils einer Fabrik, sondern auch über die Verhältnisse, die den Forscher am meisten interessieren, insofern als ein Zimmer meist nur eine direkt den Sonnenstrahlen und den Winden ausgesetzte Wand hat und die Wirkung der Feuchtigkeit der Mauern, will man zu einem praktischen Ergebnis gelangen, stets in ihrer Beziehung zum Zimmer studiert werden mufs.

Deshalb glaubte ich keinen Fehler zu begehen, wenn ich die IV. Konklusion auf Mauern von im Freien konstruierten Gebäuden ausdehnte.

In der V. Konklusion ist die Reihenfolge gegeben, in der die verschiedenen Versuchsmauern zeitlich austrockneten. Prüft

man den Verlauf der verschiedenen Kurven und vergleicht man sie untereinander, so wird man gewahr, dafs die Betonmauer im Anfange eine raschere Austrocknung aufweist als die andere, während dann die Kurve nicht nur auf derselben Höhe stehen bleibt, sondern immer höher liegt als die der anderen Mauern. Auf den ersten Augenblick scheinen sich die beiden Erscheinungen zu widersprechen, sind aber in jeder Weise gerechtfertigt. Tatsächlich enthält nun die Betonmauer zu Anfang mehr Wasser als die andern, doch ist das Wasser bei ihr gleichmäfsiger verteilt. Die Differenz zwischen der Wasserdampfspannung des Raumes und der der Mauer ist gröfser, der Austausch aktiver und die Kurve bietet eine stärker ausgesprochene Biegung. Überdies tritt die Erscheinung infolge der Beschaffenheit des Materials an der Oberfläche rascher zutage, und es wird infolge der Kapillarität aus dem ganzen homogenen Block Wasser herangesaugt, und so geht die Kurve unter die der anderen Mauern.

Gleichzeitig aber bildet sich an der Oberfläche durch Einwirkung des $CO_2$ der Luft auch eine Schicht Kalziumkarbonat, die die innere Feuchtigkeit nicht mehr so leicht passieren läfst, und so bleibt die Kurve, nachdem diese chemische Wirkung zustande gekommen ist, hoch und höher als die der andern. Ihr Niedergang findet nur ganz langsam statt. Der eigene Feuchtigkeitsgrad dieses Mauertypus ist also höher als der der anderen Versuchsmauern.

Demgegenüber trocknet die aus gelochten Backsteinen gebaute Mauer rascher. Dieser leicht erklärliche Vorgang steht in Verbindung mit der gröfseren Menge Luft, die im Innern dieser Mauer zirkuliert, womit gleichzeitig eine bedeutende Erhöhung der Verdunstungsoberfläche einhergeht. Vergleicht man dann die Kurve der gemischten Mauer mit der Kurve der nur aus Backsteinen bestehenden Mauer, so bleibt noch Folgendes zu bemerken übrig. So gut nämlich auch die gemischte Mauer gebaut sein mag, so wird sie doch immer eine gröfsere Anzahl leerer Räume zwischen Material und Material enthalten als die gewöhnliche Fabrikmauer. Es ist also auch in diesem Falle eine gröfsere mit der Luft in Berührung stehende Fläche gegeben und so

nimmt dann auch die Trocknung einen schnelleren Verlauf. Die Kurve bleibt also beständig niedriger als die der gewöhnlichen Fabrikmauer und ebenso steht es mit dem eigenen Feuchtigkeitsgrad. Im übrigen wird bei Konstruktion der gemischten Mauer eine geringere Menge Wassers verwendet als bei den andern. Es findet sich also in ihr natürlich stets weniger Wasser als in den anderen ähnlichen Mauerarten, die sich nicht, wie die Mauer mit gelochten Backsteinen, in besonderen Verhältnissen befinden.

Aufser den zu meinen Untersuchungen dienenden und wie vorerwähnt ausgehobenen Versuchsproben entnahm ich mit Hilfe genannter Methoden jeder der vier Mauern einige andere aus verschiedener Tiefe. Ich suchte damit vor allem festzustellen, wie die Trocknung einer Mauermasse in ihren verschiedenen Schichten stattfindet, und dann das Gesetz des Vorgangs aufzustellen und zu studieren.

Natürlich wurden auch diesmal die Proben zur gleichen Zeit ausgehoben und möglichst auch unter gleichen Verhältnissen, und zwar an der Oberfläche der Mauer, sowie 5, 10, 15, 20 und 25 cm tief. Zur Vermeidung jeder Verschiedenheit oder Veränderung in den Versuchsbedingungen verfuhr ich in folgender Weise: Ich schabte die Mauer leicht ab und warf das Geschabe weg. Ein zweites Geschabe dagegen brachte ich direkt auf ein Filtergefäfs. Nach Verschlufs desselben erhielt das aufgelegte Produkt einen Buchstaben. Mit einem gewöhnlichen Meifsel brachte ich dann an derselben Mauerstelle ein 3 cm tiefes Loch an, das denselben Durchmesser hatte wie der schon beschriebene kreisförmige Meifsel. Daraufhin führte ich ebendiesen mit einigen Hammerschlägen bis auf 5 cm Tiefe und brachte das betreffende Material wie vorbeschrieben in ein anderes Filtergefäfs, das dann geschlossen wurde und einen anderen Buchstaben erhielt.

Wie bereits erwähnt, lud ich in das Filtergefäfs nur einen Teil des Materials ab und zwar den unteren Teil des im Zylinder steckenden Materials, eben von der Ansicht ausgehend, dafs der

obere Teil infolge Berührung mit der Luft ein fehlerhaftes Ergebnis abwerfen könnte, und da die geringe Quantität des vorhandenen Materials eine weitere Kürzung nicht erlaubte. Auf diese Weise vorgehend, war ich zum mindesten sicher, die Probe ohne grofse Fehler aufzunehmen. Der Gebrauch des Meifsels erwies sich auch bei ziemlich dichten Mauern als sehr praktisch.

Das Herausholen der Proben aus gröfserer Tiefe geschah immer in gleichmäfsiger systematischer Weise. Die Regelmäfsigkeit der erhaltenen Ergebnisse veranlassen mich, dieses

**Diagramme des Feuchtigkeitsverlaufs in den verschiedenen Schichten einer nur mit Backsteinen erbauten Mauer.**

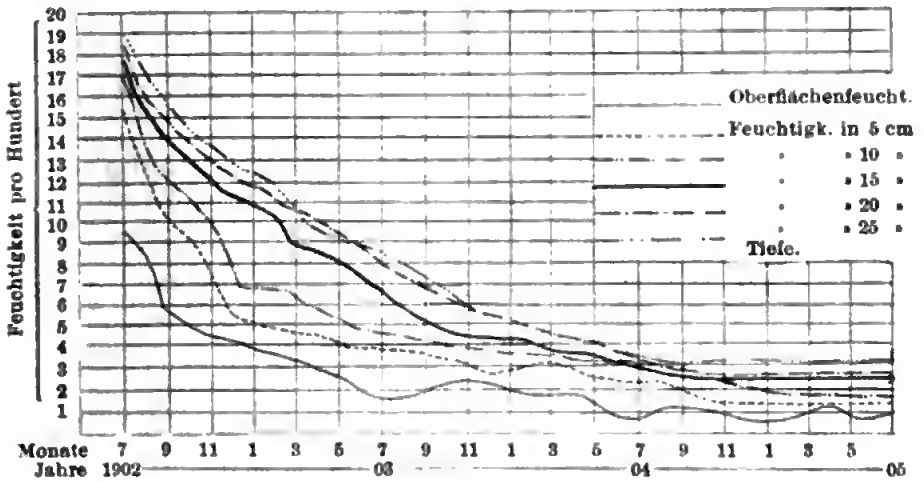



Fig. 2.

Verfahren als nützliches Supplement zur Paglianischen Methode zu empfehlen. Dies um so mehr, als auch die Methode Paglianis alle nachfolgenden Operationen bei Ausschlufs der Luft vornimmt, wodurch die mit anderen Methoden leicht eintretenden Fehler vermieden werden.

Auf Fig. 2 finden sich die Kurven des aus verschiedenen Tiefen kommenden Materials einer reinen Backsteinmauer.

Aus den Kurven ist ersichtlich:

1. Dafs der Trocknungsvorgang in den verschiedenen Schichten mit einer gewissen Regelmäfsigkeit abläuft.

Digitized by Google

2. Dafs die Schicht bis zu einer gewissen Tiefe den Einflufs des hygrometrischen Standes des Raumes verspürt.

3. Dafs von 15 cm Tiefe an die Kurve ganz regelmäfsig ohne zu fühlbare Schwankungen verläuft, und somit die charakteristische Kurve der Mauerfeuchtigkeit genannt werden könnte.

Bei einer mit Backsteinen und Steinmassen gebauten Mauer verlaufen die Kurven, wie aus Fig. 3 ersichtlich, in den oberen Schichten unregelmäfsig, werden aber in den tieferen Schichten (15 cm) regelmäfsiger.

**Diagramme des Feuchtigkeitsverlaufs in den verschiedenen Schichten einer mit Backsteinen und Steinmassen erbauten Mauer (gemischte Mauer).**

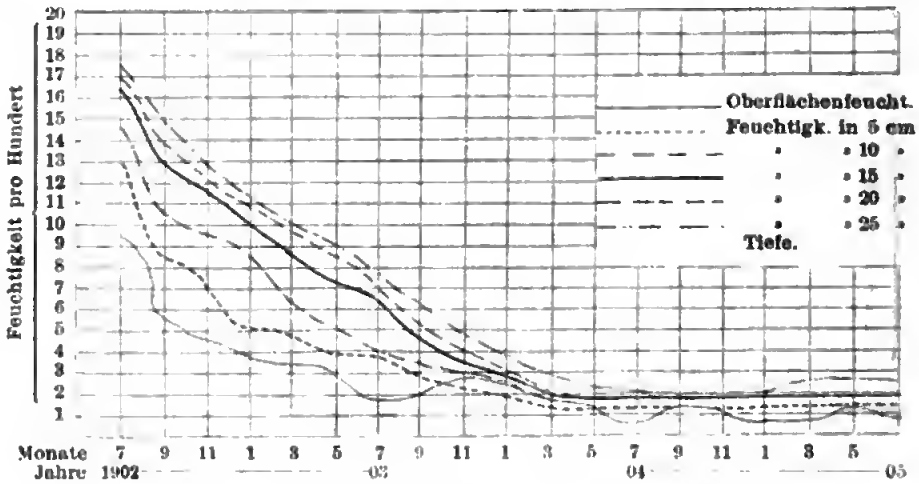



Fig. 3.

Diese Erscheinung findet ihre Erklärung, wenn man sich vergegenwärtigt, dafs die Mauer weniger dicht ist, also der aus dem Raume kommende Einflufs in den oberen Schichten stärker verspürt wird, während dieser Einflufs in einer angemessenen Tiefe ausfällt. Man befindet sich da also in einer Schicht, in der ein konstanter Feuchtigkeitsaustausch stattfindet.

Es sei hier auch darauf hingewiesen, dafs die Kurven für die über 10 cm Tiefe liegenden Schichten zwar einen regelmäfsigen Verlauf haben, aber in dieser Mauer weniger starke Biegungen bieten als in der andern. Das beweist nun, dafs in

diesem Falle unter gleichen Verhältnissen die Austrocknung langsamer erfolgte, was also das, was ich über die Kurven der verschiedenen in Prüfung genommenen Mauern im Vergleich zu einander aussagte, bestätigt.

Auch bei diesem Mauertypus läge also die charakteristische Feuchtigkeitskurve in einer Tiefe von ca. 15 cm, während die Feuchtigkeitskurven gröfserer Tiefen fast mit dieser parallel verlaufen, mit einer langsamen konstanten Annäherung, die von den Schwankungen der Kurven der oberen Schichten nicht ge-

**Diagramme des Feuchtigkeitsverlaufs in den verschiedenen Schichten einer mit gewöhnlichen, gelochten Backsteinen erbauten Mauer.**

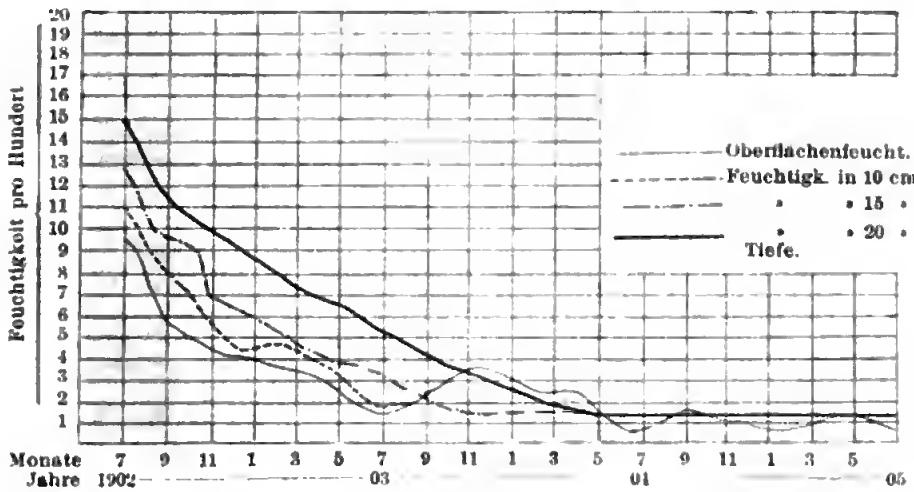



Fig. 4.

stört wird. Diese Annäherungserscheinung hat meines Erachtens eine gewisse Bedeutung, über die ich späterhin noch sprechen werde.

Fig. IV. gibt dagegen die Kurven, die mit den aus einer Mauer von durchlochten Backsteinen gehobenen Proben erhalten wurden. Die Natur der Mauer stellte in diesem Falle dem Ausheben der Proben gröfsere Schwierigkeiten entgegen, doch gelang es mir mit etwas Ausdauer mit dem vorbeschriebenen Meifsel brauchbare Proben auszuheben. Dieser Umstand mufs bei der Erklärung der Kurven, die nicht so regelmäfsig sind, in Rechnung gestellt werden. Auf jeden Fall kann man aber bei

aufmerksamer Beobachtung zum Schlusse gelangen, dafs auch bei dieser Mauerart die Kurven der oberen Schichten von dem Feuchtigkeitszustand des Raumes abhängen, sowie dafs man, bei einer gewissen Tiefe angelangt (20 cm), diejenige Schicht erreicht, welche die charakteristische Feuchtigkeitskurve aufweist.

Man versteht sofort den Grund, weshalb man erst bei gröfserer Tiefe auf die charakteristische Feuchtigkeitskurve stöfst, wenn man sich klarlegt, dafs bei dieser Mauerart

**Diagramme des Feuchtigkeitsverlaufs in den verschiedenen Schichten einer mit Beton erbauten Mauer.**

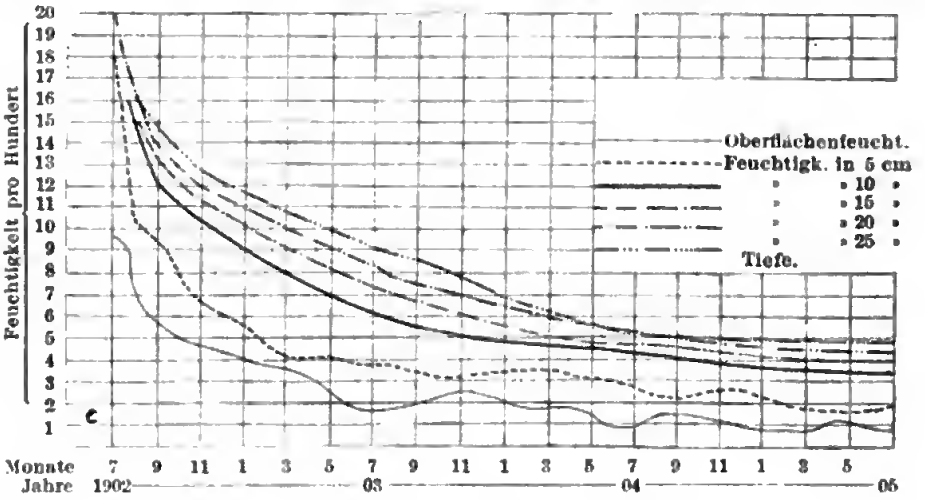



Fig. 5.

infolge des zu ihrem Bau verwendeten Materials, eine gröfsere Fläche in Berührung bleibt mit dem Raume, und so der Feuchtigkeitsaustausch erleichtert bleibt, während aus demselben Grunde der regelmäfsige Ablauf in der Feuchtigkeitsabgabe in den verschiedenen Schichten gestört wird.

Alle Kurven dieser Mauer bieten dann im Anfange stark ausgeprägte Biegungen, wonach der Radius stets gröfser und die Linie fast zu einer Geraden wird. Der Grund hierfür liegt in dem grofsen Anfangsunterschiede zwischen Feuchtigkeitsgrad der Mauer und des Raumes infolge der grofsen von der Luft berührten Oberfläche, wodurch in der ersten Zeit ein äufserst

aktives Austreten von Feuchtigkeit aus der Mauer zustandekommt.

Ist dieser starke Unterschied verringert, so fällt auch die Feuchtigkeitsabgabe, und die Feuchtigkeitsverluste der Mauer werden sehr klein. Wie aus der Figur deutlich hervorgeht, ist auch in diesem Falle die Kurve der tieferen Schichten fast parallel zur charakteristischen Feuchtigkeitskurve der Mauer und nähert sich ihr langsam.

Diese bedeutsame Erscheinung besagt, dafs auch diese Mauer, wenn auch unter besonderen Bedingungen, sobald die anderen Verhältnisse dieselben sind, nur mit einem geringen Tiefenunterschied eine Schicht besitzt, die, was die Austrocknung der Mauer anbetrifft, demselben Gesetze folgt wie die übrigen Mauern.

Unterzieht man schliefslich Fig. 5, die die verschiedenen Feuchtigkeitskurven einer in Beton gebauten Mauer wiedergibt, einer genauen Prüfung, so beobachtet man 1., dafs die Kurve der bei 5 cm Tiefe entnommenen Proben im Anfang eine stark ausgeprägte Biegung darbietet, die dann ziemlich rasch abnimmt und sich der Oberflächenfeuchtigkeitskurve nähert, mit der sie sich fast parallel hält, 2. dafs die Kurven der tieferen Schichten (15—20 cm) einen ziemlich regelmäfsigen und unter sich fast gleichen Verlauf haben, der jedoch im Vergleich mit der Fundamentallinie immer noch hoch ist; 3. dafs die Kurven der tiefen Schichten vor allem eine grofse Regelmäfsigkeit und dann auch eine sehr kleine Differenz des Feuchtigkeitsstandes des zentralen Mauerkernes aufweisen, 4. dafs die charakteristische Feuchtigkeitslinie der Mauer in diesem Falle sich in einer ca. 10 cm tiefen Schicht befindet.

Diese Schlüsse führen nun zu praktischen Erörterungen. Prüft man nämlich den ersten, so wird man gewahr, dafs die Zementmauer die Feuchtigkeit rasch in der Oberflächenschicht verliert, auf welche Weise also eine Art undurchdringlicher Hülle entsteht, auch weil die Schicht sich rascher als in anderen Mauern in kohlensauern Kalk umwandelt, der das Entweichen der Feuchtigkeit vom Zentralkern aus verhindert, weshalb also auch die Kurven desselben nicht nur einen gleichen Verlauf,

sondern auch fast gleiche Werte haben. Überdies begreift man, dafs der Prozentsatz des Wassers des inneren Zentralteils der Mauer bedeutend sein mufs.

Aus demselben Grunde leuchtet es ein, dafs die charakteristische Feuchtigkeitskurve in einer relativ wenig tiefen Schicht liegen mufs. Wie aus dem Vorhergesagten hervorgeht, mufs diese Linie sich sofort an der Grenze der Mauerwandschicht finden, die nicht mehr direkt dem Einflusse des Raumes untersteht, sondern seinen Einflufs nur noch durch Reflex verspürt und zwar durch eine Mauerschicht, die schon einen fast konstanten Feuchtigkeitsaustausch besitzt.

Ordnet man nun und vergleicht man, was ich in den vorigen Kapiteln auseinandergesetzt habe, so kann man daran festhalten, dafs jede Mauer unter sonst gleichen Verhältnissen bezüglich des Wassers, das in ihr mechanisch festgehalten wird, ein ganz besonderes stark ausgeprägtes Verhalten an den Tag legt. Dieser Tatsache, die als eine Zusammenfassung vieler oben untersuchter Erscheinungen angesehen wird, mufs jedoch stark Rechnung getragen werden, wenn, sei es nun zu wissenschaftlichen oder praktischen Zwecken, Bestimmungen gemacht werden sollen. Läfst man dieses Gesetz aufser acht, so kann man derart in grobe Fehler verfallen, dafs durch sie der Experimentator zu vollauf irrtümlichen Schlüssen geführt wird. Dieser Fall könnte z. B. eintreten, wenn man zur Berechnung der zur Austrocknung einer Mauer aus gelöcherten Backsteinen nötigen Zeit sich einfach des bei einer anderen Mauerart erhaltenen Resultats bedienen wollte oder umgekehrt.

Wie verschieden sind nicht die vielen Schlüsse, zu denen bei Feststellung des Feuchtigkeitskoeffizienten sog. trockener Mauern nicht wenige, als geschickte Experimentatoren bekannte Forscher gelangt sind?

In Abhängigkeit hiervon mufs man bei Festsetzung der gestatteten Grenze auch die örtlichen Verhältnisse in Rechnung ziehen, denn es steht aufser Zweifel, dafs eine Mauer unter gleichen Bedingungen nicht nur von Ort zu Ort den ihr eigenen

Feuchtigkeitsgrad verändert, sondern auch an demselben Orte, je nachdem die Mauer stärkerer oder schwächerer Bestrahlung ausgesetzt ist, — Erscheinungen, die jedenfalls dem mittleren Feuchtigkeitsgrad, der mittleren Temperatur der Luft und vielleicht auch der Stärke und der Richtung der herrschenden Winde zuzuschreiben sind.

Der ganze Vorgang ist somit sehr verwickelt, steht aber immer in ganz bestimmter Beziehung zu den verschiedenen Materialien, die einen Mauerkörper ausmachen. Es ist dies eine für die Folgerungen in der Praxis ganz bedeutende Tatsache, denn nur so ist es möglich, die gestellte Aufgabe zu lösen.

Wie ich bei zahlreichen Versuchen, die mit schon erbauten Mauern verschiedenen Alters angestellt worden waren, ersehen konnte, ist dieses besondere Verhalten eng verknüpft mit den Eigenschaften, die ich »eigenen Feuchtigkeitsgrad« und »charakteristische Feuchtigkeitskurve« der Mauer genannt habe. Hat man also eine dieser Quantitäten bestimmt, so hat man auch den hygroskopischen Grad einer Mauer festgestellt. Diese beiden Quantitäten haben dann ihrerseits eine gewisse Beziehung untereinander, denn unter besonderen Verhältnissen kann die Kurve des eigenen Feuchtigkeitsgrades mit der charakteristischen Feuchtigkeitskurve zusammenfallen und umgekehrt. Im allgemeinen mufs man die Kurve des eigenen Feuchtigkeitsgrades als Grenze (in mathematischem Sinne) der charakteristischen Feuchtigkeitskurve ansehen. Mit anderen Worten: Wenn die beiden Kurven zusammenfallen, so mufs die Mauer für vollständig ausgetrocknet angesehen werden.

In der Praxis hat man diesen Punkt erreicht, wenn die charakteristische Feuchtigkeitskurve fast konstante Ordinaten schneidet. Alsdann hat, von ganz besonderen künstlichen Verhältnissen abgesehen, der Feuchtigkeitsaustausch zwischen Mauer und Raum aufgehört. Mit anderen Worten ausgedrückt, kann die Mauer im Verhältnis zu dem sie umgebenden Raume für trocken angesehen werden, insofern, als sie keinen Wasserdampf mehr abgibt.

Wie wir bereits gesehen haben, wechselt der eigene Feuchtigkeitsgrad je nach den Raumverhältnissen von Ort zu Ort. Da stellt sich nun von selbst die Frage ein, ob er unter gleichen Raumverhältnissen, jedoch bei verschiedener Stärke der Mauer auch verschieden ist. Für diese Frage besitze ich keine experimentellen Belege, doch glaube ich auf Grund der in den verschiedenen Tabellen vermerkten Ergebnisse mit grofser an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit behaupten zu können, dafs der eigene Feuchtigkeitsgrad auch dann nicht verschieden ist, insofern als er absolut von den Raumverhältnissen abhängen mufs; da auch die tiefsten Kerne einer älteren Mauer nicht mehr Feuchtigkeit enthalten als diejenige, die sich in der Schicht der charakteristischen Feuchtigkeitskurve findet.

Nur bei relativ dünnen Mauern wird das Feuchtigkeitsgleichgewicht rascher erreicht, wie sich dies aus der Versuchsreihe mit der Mauer aus gelochten Backsteinen ersehen läfst, die eben wegen der grofsen Luftmenge, welche mit ihr in Berührung kommt, meiner Ansicht nach dieselben Verhältnisse bieten mufs wie eine relativ dünne aber dichte Mauer.

Es besteht demnach zweifellos eine enge und stete Beziehung zwischen der Feuchtigkeit der Mauer und der Feuchtigkeit der Atmosphäre. Solange man somit, auf jede andere Betrachtung verzichtend, nicht den eigenen Feuchtigkeitsgrad in der Mauer erreicht hat, mufs man, will man ein genaues Urteil über die Gesundheitsverhältnisse eines Hauses in Bezug auf Feuchtigkeit abgeben, fortfahren, genaue Bestimmungen über den Grad der Trockenheit der Mauern vorzunehmen. Diese Bestimmungen müssen jedoch unter gleichen Bedingungen einige Male und zwar mit einem Abstand von verschiedenen Tagen unter verschiedenen atmosphärischen Bedingungen wiederholt werden, damit ein Urteil gewonnen werden kann über den Gang der Mauerfeuchtigkeit. Denn, wenn die Mauer trocken ist, so darf ihr Feuchtigkeitszustand auch bei den verschiedensten atmosphärischen Verhältnissen keine bedeutenden Veränderungen erfahren.

Bezüglich Abnahme der Proben wird es immerhin ratsam sein, bei dichten Mauern dieselben nicht unter 15 cm Tiefe und bei Mauern aus porösem Material nicht unter 20 cm Tiefe auszuheben. In noch weiter nach oben liegenden Schichten wird der Einfluſs des Raumes noch stark empfunden. Wie jedoch schon oben erwähnt, muſs bei Herausnahme der neuen Probe der hygrometrische Stand des Raumes verschieden sein, wenn ein brauchbares Urteil gewonnen werden soll.

Auf Grund der ausgeführten Versuche kam ich also zu folgenden Endschlüssen:

1. Die Beschaffenheit des Materials einer Mauer übt nur eine bestimmte Zeit lang einen Einfluſs auf den Raum aus und zwar so lange, bis die Mauer den eigenen Feuchtigkeitsgrad erreicht hat.
2. Will man ein genaues Urteil haben über die Bewohnbarkeit eines Hauses, so muſs man, auch wenn andere Versuche positives Ergebnis geliefert haben, zu direkter Bestimmung der Mauern schreiten.
3. Das Ausziehen der Proben muſs mehrmals wiederholt werden, und zwar möglichst in mehr als 10 cm von der Oberfläche entfernt liegenden Tiefen. Überdies werden die Proben stets unter möglichst gleichen Verhältnissen in Bezug zur Mauer, dagegen mit einem Abstand von verschiedenen Tagen und unter stark verschiedenen atmosphärischen Verhältnissen herausgenommen.
4. Zur Beurteilung der Feuchtigkeit einer Mauer kommt es nicht darauf an, ob die Probe aus reinem Mörtel, nur aus Backsteinen oder aus gemischtem Material besteht, die Hauptsache ist dabei, daſs man bei Wiederholung des Versuchs zur Feststellung eines definitiven Faktums immer in derselben Weise bezüglich Technik und Wahl der bezüglich der Mauer in Betracht kommenden Verhältnisse vorgeht.
5. Die Mauer aus gelochten Backsteinen bietet, was schnelle Austrocknung anbelangt, ohne Zweifel die meisten Vorteile. Abgesehen von sehr kleinen Unterschieden haben

jedoch alle andern der Prüfung unterzogenen Mauerarten das gleiche Feuchtigkeitsvermögen.

6. Will man das Trocknen einer Mauer erleichtern, so mufs man sie mehrere Monate lang ohne jeden Bewurf lassen und sie reichlicher Lüftung aussetzen.
7. Das künstliche Austrocknen (mit $CO_2$) ist nur wenig ratsam und soll nur in Ausnahmefällen angewandt werden, und auch nur dann, wenn die Mauer relativ dünn ist.

# Über das Eindringen der Wärme in feste Objekte und Organteile tierischer Herkunft.

Von

**Max Rubner.**

## Einleitung.

Die Fälle, in welchen man bei hygienischen Fragen Genaueres über das Eindringen der Wärme in nicht poröse Körper oder in poröse Körper, deren Poren einem gasförmigen Medium oder Wärmeträger nicht zugänglich sind, wissen möchte, sind durchaus nicht selten. Viele Probleme des Wärmeschutzes, Aufgaben der Desinfektion, Akte der Nahrungsbereitung, zählen hierzu.

Auffallenderweise ist über derartige Vorgänge aber nicht viel Zahlenmäfsiges bekannt. Über den Erwärmungsvorgang poröser Objekte durch Dampf haben wir dagegen recht zutreffende Vorstellungen gewonnen. Ich habe vor einigen Jahren die dabei in Betracht kommenden Vorgänge eingehend nach Experimenten dargestellt.[1])

Die Erwärmungsvorgänge fester oder halbfester Körper sind schon von dem Standpunkt einer wissenschaftlichen Erklärung des Desinfektionsprozesses unbedingt der Klarlegung bedürftig, aber auch von praktischen Gesichtspunkten aus.

Warum dieses Feld experimenteller Untersuchung so ganz unbeackert blieb, mag vielleicht einmal in der weitverbreiteten laienhaften Vorstellung liegen, dafs hier nichts zu erläutern und

1) Hygien. Rundschau, Bd. VIII, S. 721 ff. u. Bd. IX, S. 321.

zu klären wäre wegen der Einfachheit des Prozesses, es mag aber auch in anderen Fällen gerade das Moment von der Weiterbearbeitung abgehalten haben, dafs man sich mit Hilfe der allgemeinen elementaren Untersuchungsmethoden bald an eine Grenze gebracht findet, die einem tieferen Verständnis entgegensteht.

Nicht um einen physikalischen Vorgang handelt es sich dabei, sondern um Komplikationen, die sich aus der Natur der organisierten Substanz erklären und die Schwierigkeiten in hohem Mafse steigern.

Der Anstofs zu den vorliegenden Untersuchungen wurde mir seinerzeit durch eine praktische Aufgabe, nämlich die Prüfung der Sterilisation für Fleisch gegeben, ich mufste aber nur zu bald erkennen, dafs für solche Begutachtungen jede wissenschaftliche Grundlage, ohne die man zu einem brauchbaren Resultat eben nicht gelangen kann, fehlte.

Man sagt in der Regel bei dem Akte der Wärmeverbreitung, den wir hier erforschen wollen, handle es sich um die Wärmeleitung. Tatsächlich ist dies, wenigstens für poröses Material, gar nicht richtig, weil hier in den Hohlräumen auch Strahlungsvorgänge eintreten, aber auch sonst häufig unzutreffend, weil eine ganze Reihe von Faktoren auf den Wärmegang einwirken.

Sehr häufig bedingt die Organisation eine sehr ungleiche Verteilung der Stoffe mit physikalisch sehr ungleichen Eigenschaften.

Je nach der Natur der Objekte findet sich ein mehr oder minder grofser Widerstand für die Ausbreitung der Wärme. Am wechselvollsten ist die Wärmedurchdringung bei solchen Objekten mit ungleichem Feuchtigkeitsgehalt, wobei sowohl Kristallwasser als hygroskopisches Wasser oder das kapillare und zwischengelagerte Wasser in Betracht kommen kann.[1])

Die Feuchtigkeit und die Trockenheit in Gegenständen bedingen nicht nur Verschiedenheiten der Wärmeleitung, sondern der biologischen Wirkung der Wärme. Wir haben in den Objekten zwar häufig, doch

1) Archiv f. Hygiene, Bd. XXV, S. 34.

nicht immer »trockene Wärme« sondern auch feuchte Wärme, selbst Dampf in verschiedenen Eigenschaften; darauf möchte ich, ohne Einzelfälle zu untersuchen, noch etwas eingehen.

Die in den Stoffen weiterbewegte Wärme kann an sich oder zusammen mit Feuchtigkeit wirken, beides Vorkommnisse, die in der mannigfaltigsten Weise abgestuft werden können und in ihren Wirkungen grofse Verschiedenheiten aufweisen müssen.

Feuchtigkeit und Wärme gewinnt für chemische Umsetzungen eine ganz andere Bedeutung als Wärme allein; Gerinnungserscheinungen, Quellungsvorgänge, Lösungsprozesse, Zersetzungen können ausgelöst und in ihrem Ablauf beeinflufst werden.

Gerade mit Bezug auf die Lebewesen und Desinfektionspraxis liegt in der Anwesenheit oder dem Fehlen der Feuchtigkeit ein wichtiges Moment.

Die Wärme ist an sich ein Mittel zur Desinfektion und zur Vernichtung von Lebewesen; durch sie kann ohne jede weitere Beihilfe ein organisches System erschüttert und zerstört werden. Auch im luftleeren Raum findet bei bestimmten Temperaturgrenzen, die unter der Vergasungstemperatur liegen, die Tötung statt.

Im praktischen Leben kommen aber auch Fälle vor, bei welchen Körper, welche benetzt oder halbbenetzt sind oder nur hygroskopisches oder anderweitig gebundenes Wasser enthalten, erwärmt werden. Diese verschiedenen Vorkommnisse sind bisher überhaupt nicht beachtet oder als differente Erscheinungen gewürdigt worden; es wird aber wohl nötig sein, experimentell wie theoretisch ihnen mehr Aufmerksamkeit zu widmen.

Findet die eindringende Wärme freies Wasser, so ist die Dampfbildung oder die einfache Erwärmung genügend, um einen hohen desinfektorischen Einflufs zu äufsern. Bei Anwesenheit von hygroskopischem Wasser wird es auf dessen Menge und auf die Möglichkeit des Absinkens der relativen Feuchtigkeit in den sich erwärmenden Hohlräumen ankommen, ob schnell, langsam oder gar nicht eine Desinfektion sich erzielen läfst.

Ob Wasserbindungen wie in Kolloiden auf desinfektorische Wirkungen einen Einflufs üben ist bislang nicht

bekannt. Die volle Trockenheit aber ist der gröfste Feind jeglichen rasch erfolgreichen Desinfektionsverfahrens. Die Ergebnislosigkeit mancher Desinfektionsakte erklärt sich aus diesem ungleichen Feuchtigkeitsvorkommen.

Aus diesen Tatsachen läfst sich auch folgern, wie notwendig ein Verständnis des Wesens der Desinfektion für die praktische Durchführung sein mufs. Die Vielheit der Bedingungen, die zum Gelingen gehören, war in früheren Jahren nicht genügend bekannt, und soweit sie bekannt war, nicht genügend gewürdigt worden. Sie bedarf zum Teil auch heute noch eines ernsten Studiums.

Auch in den Objekten selbst haben wir es nach dem Gesagten mit biologisch verschiedenen Wärmezuständen zu tun. Die Grade ihrer Wirksamkeit sind schon aus früheren Untersuchungen bekannt.[1]) Hier an dieser Stelle war nur der Hinweis am Platze, dafs die Zustände im Innern fester Körper mannigfaltige sind.

Ich lasse mir es genügen, auf diesen Umstand der Ungleichartigkeit der Erwärmung in ihren Beziehungen zur Tötung von Lebewesen hingewiesen zu haben und will nochmals betonen, wie wichtig die Kenntnis von der Natur der zu desinfizierenden Objekte für den erstrebten Enderfolg sein kann.

Ein Gegenstand, dem aber besondere Aufmerksamkeit gewidmet werden mufs, ist die Wärmedurchdringung als einfacher physikalischer Vorgang. Dies Problem völlig lösen zu können, mute ich mir nicht zu, es wird aber, wie ich meine, in vielen Richtungen ein Fortschritt, eine Klärung und Förderung für die praktischen Ziele gewonnen werden können, wenn man, gedrängt von dem praktischen Bedürfnis, wenigstens versucht, diesen Fragen näher zu treten.

## I.

Viele Objekte des täglichen Lebens, die wir als Kälteschutzmittel gebrauchen, wie die Kleidung, erreichen dieses Ziel, wie ich gezeigt habe, in einer ganz vorzüglichen Weise und bedeuten

1) Hygien. Rundschau, a. a. O., Bd. IX.

in der Ökonomie unserer Kultur einen enormen Fortschritt; sie sind stationäre Mittel, unnötige Wärmeverluste einzuschränken.

Solche und ähnliche Körper haben auch die Fähigkeit, dem Eindringen der Wärme selbst bei grofsen Temperaturunterschieden stundenlang Widerstand zu leisten. Schon vor längerem habe ich an der Hand einiger Berechnungen auch diesen Vorgang des fortschreitenden Eindringens der Wärme in die Schichten einer schlechtleitenden Masse kurz erörtert.[1])

Das Vordringen der Wärme in Objekte hängt natürlich in einer Beziehung von der Temperaturdifferenz zwischen dem Zentrum und den Begrenzungsflächen ab. Sie hängt weiter ab von dem Leitungsvermögen *(k)* der Substanz, das durch geeignete Versuche zu bestimmen sein wird oder für welches sich auch schon Konstanten finden. Bekanntlich versteht man darunter die Menge der Wärme, welche ausgedrückt in Wärmeeinheiten durch eine bestimmte Fläche, bestimmte Dicke, bei einer gewissen Temperaturdifferenz in der Zeiteinheit hindurchgeht. Die für *k* gewählten Einheiten sind nicht gleich benannt bei allen Autoren. Ich halte an folgenden Zahlen zur Konstantenbestimmung fest: qcm, 1 cm Dicke, $1^0$ Temperaturdifferenz, 1", g Kal.

Das Vordringen der Wärme hängt auch von dem Wasserwert der Substanz ab. Je mehr in einem Raumteil an Wärme aufgespeichert bleibt, um so langsamer dringt sie vor. Der Wasserwert ergibt sich aus Dichte (spez. Gew.) und spezifischer Wärme.

Herr Dr. Ziegel hat vor Jahren auf meine Anregung hin eine Ableitung des Wärmeganges in Objekten unter den hier in Frage kommenden Verhältnissen ausgeführt und dabei folgendes gefunden:

Die Bewegung der Wärme in einer homogenen Kugel wird gegeben durch die Gleichung

$$u = c - \frac{2(c-b)R}{r\pi} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n} (-1)^{n+1} e^{-a^2\left(\frac{n\pi}{R}\right)^2 t} \sin\left(\frac{n\pi}{R} r\right), \quad a^2 = \frac{k}{\varrho \cdot C}.$$

Hierin bedeuten *u* die Temperatur, *b* die gemeinsame Anfangstemperatur im Inneren der Kugel, *c* die konstante Oberflächen-

1) a. a. O. Hygien. Rundschau, Bd. VIII.

temperatur, $t$ die Zeit, $k$ die Wärmeleitungsfähigkeit, $\varrho$ die Dichtigkeit, $C$ die spez. Wärme, $R$ den Radius der Kugel und $r$ den variablen Radiusvektor.

Im Mittelpunkte der Kugel ist $r = 0$; für diesen Punkt geht die Gleichung über in

$$u = c - \frac{2(c-b)R}{\pi} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n} (-1)^{n+1} e^{-a^2 \left(\frac{n\pi}{R}\right)^2 t} \frac{n\pi}{R}, \quad a^2 = \frac{k}{\varrho \cdot C}$$

$$u = c - 2(c-b) \sum_{n=1}^{\infty} (-1)^{n+1} e^{-a^2 \left(\frac{n\pi}{R}\right)^2 t}, \quad a^2 = \frac{k}{\varrho \cdot C}$$

$$c - u = 2(c-b) \left\{ e^{-a^2 \left(\frac{\pi}{R}\right)^2 t} - e^{-a^2 \left(\frac{2\pi}{R}\right)^2 t} + e^{-a^2 \left(\frac{3\pi}{R}\right)^2 t} - \dots \right\}$$

$$\frac{c-u}{2(c-b)} = \frac{1}{e^{a^2 \left(\frac{\pi}{R}\right)^2 t}} - \frac{1}{e^{a^2 \left(\frac{2\pi}{R}\right)^2 t}} + \frac{1}{e^{a^2 \left(\frac{3\pi}{R}\right)^2 t}} - \dots$$

Wir setzen nun, um einen angenäherten Wert für $t$ zu erhalten,

$$\frac{c-u}{2(c-b)} = \frac{1}{e^{a^2 \left(\frac{\pi}{R}\right)^2 t}}, \quad e^{a^2 \left(\frac{\pi}{R}\right)^2 t} = \frac{2(c-b)}{c-u},$$

$$\boxed{t = \frac{R^2 \operatorname{lognat} \frac{2(c-b)}{c-u}}{a^2 \pi^2}}$$

Die Temperatur nach der hierdurch bestimmten Zeit $t$ beträgt nicht genau $u$, sondern

$$c - 2(c-b) \left\{ \frac{c-u}{2(c-b)} - \left(\frac{c-u}{2(c-b)}\right)^4 + \left(\frac{c-u}{2(c-b)}\right)^9 - \dots \right.$$

$$= c - (c-u) + \frac{(c-u)^4}{[2(c-b)]^3} - \frac{(c-u)^9}{[2(c-b)]^8} + \dots$$

$$= u + \frac{(c-u)^4}{[2(c-b)]^3} - \frac{(c-u)^9}{[2(c-b)]^8} + \dots$$

Dieser Wert ist gröfser als $u$ und kleiner als $u + \frac{(c-u)^4}{[2(c-b)]^3}$. Man erhält also nach der berechneten Zeit $t$ eine Temperatur, die sich um höchstens $\frac{(c-u)^4}{[2(c-b)]^3}$ von $u$ unterscheidet.

Auf Grund dieser Werte ist daher die Frage leicht zu beantworten: Wann erreicht ein in der Mitte einer homogenen Kugel befindliches Thermometer die Temperatur $u = 99^0$?

Beispiel: Kugelradius $R = 5$ cm.

1) $b = 20^0$, $c = 100^0$
$k = 0{,}0001523$, $\varrho = 0{,}420$, $C = 0{,}50$

$$a^2 = \frac{k}{\varrho \cdot C} = \frac{0{,}0001523}{0{,}21}.$$

Dann ist

$$t = \frac{25 \cdot \text{lognat } 160 \cdot 0{,}21}{0{,}0001523 \cdot \pi^2} = \frac{5{,}25 \cdot 5{,}07517}{0{,}0001523 \cdot \pi^2}$$

$t = 17726$ Sek. $= 4$ Stunden 55 Min. 26 Sek.

2) $b = 20^0$, $c = 100^0$
$k = 0{,}000065$, $\varrho = 0{,}105$, $C = 0{,}56$

$$a^2 = \frac{k}{\varrho \cdot C} = \frac{0{,}000065}{0{,}0588}.$$

Dann ist

$$t = \frac{25 \cdot \text{lognat } 160 \cdot 0{,}0588}{0{,}000065 \cdot \pi^2} = \frac{1{,}47 \cdot 5{,}07517}{0{,}000065 \cdot \pi^2}$$

$t = 11630$ Sek. $= 3$ Stunden 13 Min. 50 Sek.

3) $b = 20^0$, $c = 100^0$
$k = 0{,}0000811$, $\varrho = 0{,}105$, $C = 0{,}56$

$$a^2 = \frac{k}{\varrho \cdot C} = \frac{0{,}0000811}{0{,}105 \cdot 0{,}56} = \frac{0{,}0000811}{0{,}0588}.$$

Dann ist

$$t = \frac{25 \cdot \text{lognat } 160 \cdot 0{,}0588}{0{,}0000811 \cdot \pi^2} = \frac{1{,}47 \cdot 5{,}07517}{0{,}0000811 \cdot \pi^2}$$

$t = 9320{,}75$ Sek. $= 2$ Stunden 35 Min. $20^3/_4$ Sek.

Man kann sich also für einen Spezialfall eine gute Vorstellung von der Geschwindigkeit des Wärmeeindringens machen.

Für ein paar Fälle ist nachstehend die Rechnung für eine Kugel von verschiedenem Radius durchgeführt. Ich wählte als Beispiele die Wärmeleitung in Kleidern und Wäsche, als Grundlagen dienen Zahlen für erstere die glatt gewebten Stoffe, als Typus

für die Oberkleidung der Wollflanell, und zwar in zwei Zuständen, völlig trocken und gesättigt mit hygroskopischem Wasser.[1]) Die Durchdringungszeiten für die Wärme sind;

| Radius: | 5 cm | 25 cm | 50 cm |
|---|---|---|---|
| Glatte Baumwolle | 4 Std. 55′ | 123 Std. | 492 Std. |
| Wollflanell . . . | 3 » 13′ | 80 » | 323 » |
| Feuchter Flanell | 2 » 35′ | 64 » | 258 » |

Die Zahlenergebnisse zeigen, wie langsam ein Temperaturausgleich gewonnen wurde, und dafs die Zunahme der Dichte für die Verlangsamung des Wärmestroms weit wichtiger sein kann als die Förderung der Wärmebewegung durch gleichzeitige Zunahme des Leitungsvermögens.

Die Zahlengrundlagen für obige Berechnung waren:

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. Dichte = | 0,420, | spez. Wärme | 0,50 | Leitungsvermögen | 0,000 152 |
| 2. | 0,105 | der Grund- | 0,56 | » | 0,000 065 |
| 3. | 0,105 | substanz | 0,56 | » | 0,000 081 |

Das Leitungsvermögen der Substanz in 1. war demnach fast doppelt so grofs als bei 3. und trotzdem beeinflufst die Dichte das Resultat so sehr, dafs die Erwärmungszeiten in 3 die von 1 ganz erheblich überschreiten.

Wenn man die aufserordentlich langen Zeiten für den Temperaturaustausch im Gedächtnis hat, begreift man, wie oft bei einer nicht sachgemäfs geleiteten Desinfektionsweise ein Versagen der Wärme- und Dampfdesinfektion eintreten mufs. Die richtige Auswahl und Anordnung des zu desinfizierenden Objekts ist bei der Desinfektion weit wichtiger als manche andere Nebenumstände, auf die man bisher das Augenmerk zu konzentrieren pflegte.

Ob der Dampf absolut gesättigt oder etwas unter dem Sättigungspunkt ist, ob er durch Überdruck etwas über 100° temperiert ist oder etwas unter 100° usw., ist alles nicht so wichtig, als die richtige Anwendung und Vorbereitung des Objekts.

Die so oft versuchte Warenballendesinfektion ist ein Unternehmen, welches man im Grunde genommen am besten von den

1) Archiv f. Hygiene, 1898, Nr. 15.

Desinfektionsaufgaben überhaupt streichen sollte. Die Natur grofser Objekte und noch dazu zugeschlossener Ballen, deren nähere Beschaffenheit man gar nicht kennt, sollte von vorneherein es verbieten, eine für diese Zwecke anwendbare Versuchstechnik ausarbeiten zu wollen. Was man nicht sehen und richtig anordnen kann, eignet sich niemals für die Desinfektion.

Zahlenmaterial für die oben entwickelte Formel des Wärmedurchtritts findet sich in ziemlichem Umfange, ich glaube aber, dasselbe wird nicht allen modernen Anforderungen an Genauigkeit entsprechen. Ältere Angaben finden sich bei Péclet (Traité de la chaleur T. I p. 602 ff, IV éd. Paris 1878) und bei Glan (Poggendorfs Annal. 1896, Heft 4 u. 5).

Für Objekte, wie sie zum Wärmeschutz des Menschen und daher auch in der Desinfektionspraxis Anwendung finden, habe ich selbst die umfangreichsten Messungen ausgeführt. (Archiv für Hygiene XXIV, S. 300.)

Für die kompakte Baumwolle fand ich 0,495 spez. Wärme
deutsche Wolle . . . . . 0,560 » »
Seide . . . . . 0,545 » »

Einige Zahlen über Dichte und Leitungsvermögen von Stoffen mögen noch angeführt sein.[1])

| | Spez. Gewicht | Konstante k |
|---|---|---|
| Wollflanell . . . . . | 0,105 | 0,000065 |
| Wolltrikot . . . . . | 0,179 | 0,000068 |
| Seidetrikot . . . . . | 0,219 | 0,000092 |
| Leinentrikot . . . . . | 0,302 | 0,000118 |
| Baumwolltrikot . . . . | 0,199 | 0,000100 |
| Wolle — Winterkammgarn | 0,238 | 0,000073 |
| Glatte Wolle . . . . . | 0,364 | 0,000074 |
| » Baumwolle . . . . | 0,350 | 0,000090 |
| » Seide . . . . . | 0,302 | 0,000072 |
| » Leinen . . . . . | 0,642 | 0,000120 |

1) Die Einheiten sind g-Kal., 1° Differenz der begrenzenden Fläche, 1 qcm Fläche, 1 cm Abstand der Flächen für den Wärmedurchgang.

| | Spez. Gewicht | Konstante k |
|---|---|---|
| Schlafdecke[1]) . . . . . | 0,153 | 0,000721 |
| Leintuch . . . . . | 0,727 | 0,000405 |
| Steppdecke . . . . . | 0,284 | 0,000109 |
| » . . . . . | 0,288 | 0,000080 |

Durch die Benetzung mit Feuchtigkeit wird das Leitungsvermögen gesteigert, bis schliefslich bei Porenschlufs das Wasser die dominierende Substanz wird.[2])

Die Vergröfserung der Leitungskonstante durch hygroskopisches Wasser beträgt bei Wolle + 109,8%, bei Seide + 40,6%, bei Baumwolle + 15,9%.

Bei benetzten Stoffen erreicht die Gröfse $k$ Werte, die zwischen 0,00129 und 0,000147 je nach Art der Grundsubstanzen schwanken.[3])

## II.

Für eine ganze Reihe wichtiger Substanzen von Organteilen des Körpers fehlt es an zuverlässigen zahlenmäfsigen Angaben, über die Wärmeleitung und man behilft sich mit mehr oder minder ungenauen Schätzungen.

Die Anwendung der Wärme auf Substanzen, die im natürlichen Zustande wasserhaltig sind, interessiert namentlich im Hinblick auf die Speisenbereitung. Genau betrachtet, hat schliefslich letztere auch Bedeutung als Desinfektionsvorgang, weil der Kochakt auch zugleich eine Vernichtung von Keimen herbeiführt.

Die Anwendung der Wärme auf Substanzen kann hierbei eine sehr mannigfache sein, teils heifse Luft, teils diese in Kombination mit strahlender Wärme, kochendes Wasser, Dampf in gespannter oder ungespannter Form.

Soweit tierische Nahrungsmittel, Fleisch, Eier, Organe in Frage stehen, sind Eiweifs, Wasser, Fett (neben Salzen und Glykogen) die quantitav in Betracht kommenden Bestandteile.

---

1) Spitta, Archiv f. Hygiene, Bd. XXXII, S. 285.

2) Archiv f. Hygiene, Bd. XXV, S. 39 u. 40.

3) Dasselbe, S. 51.

Das Leitungsvermögen von Wasser ist wahrscheinlich = 0,001, das der Fette und Öle nur 0,000395—0,000452, in runder Summe also etwa $^1/_3$—$^1/_2$ des Leitungsvermögens des Wassers. Für die eiweifsartigen Stoffe können wir annehmen, dafs ihre Leitung denen der keratinartigen Substanzen z. B. der Wolle sehr nahe kommt, oder mit Bezug auf praktische Lösungen von hier interessierenden Fragen, wohl geradezu als gleichwertig zu erachten ist.

Für die Wollhaare der verschiedensten Herkunft habe ich Angaben nach absolutem Mafse gemacht, nach denen ersichtlich ist, dafs feste Keratinsubstanzen eine Leitungskonstante von rund 0,0005 besitzen, d. h. das Leitungsvermögen ist rund $^1/_2$ so grofs wie jenes des Wassers.

Mehr als eine ungefähre Vorstellung über die Gröfsenordnung des Wärmeleitungsvermögens kann man aus solchen Angaben über das Leitungsvermögen der Bestandteile der Organe nicht ableiten. Im allgemeinen dürfte es sich um relativ gute Leiter der Wärme handeln, deren Eigenschaften in dieser Hinsicht um so mehr absinken, je reicher sie an Eiweifs und Fettstoff werden. Eine direkte Untersuchung ist aber, so grofse Schwierigkeiten sie bietet, nicht zu entbehren.

Von allen Nahrungsmitteln, welche in gröfseren Teilen oder in umfangreicherem Mafse der Erwärmung unterworfen werden, nehmen die fleischartigen Teile das gröfste Interesse für sich in Anspruch. Was sonst Verwendung findet, läfst sich ohne Schaden für Genufszwecke zerkleinern und der Wärme den Weg kürzen. Mit Rücksicht hierauf wollen wir zunächst dem Muskelfleisch und den fettartigen Materien das Augenmerk zuwenden.

Nach Adamkiewicz soll Muskelsubstanz halb so gut leiten wie Wasser, was eine recht ungefähre Angabe sein mag. Die spez. Wärme wird zu 0,7692 nach A., zu 0,825 nach Rosenthal aufgeführt. Ich finde für mageres Fleisch nach eigener Messung 0,828. Als Dichte gibt Glan 1,07; dies stimmt aber nicht ganz, der Wert ist zu hoch für den Durchschnitt.

Auch die Richtung des Eindringens der Wärme kann Verschiedenheiten der Wärmeleitung bedingen.

Zuerst hat man bei Kristallen und Hölzern beobachtet, dafs die Wärme mit verschiedener Schnelligkeit in den verschiedenen Richtungen fortgepflanzt wird. Von Greifs[1]) sind dann solche Experimente auch mit tierischen Substanzen ausgeführt und diese Untersuchungen namentlich durch Klug weiter ausgedehnt worden.

In der Epidermis breitet sich die Wärme nach allen Richtungen hin gleichmäfsig aus, in den Zellen wird die Wärme besser der Längsaxe nach geleitet als quer zu denselben.

In anderen Fällen, wie bei manchen vegetabilischen Nahrungsmitteln, den Knollengewächsen, fehlt eine bestimmte Anordnung der Substanzen und dürfte daher auch eine allseitig gleichmäfsige Leitung der Wärme sich finden.

Zur direkten Messung der Wärmeleitung des Fleisches und ähnlicher Substanzen bediente ich mich des Stefanschen Kalorimeters, dessen Gebrauch ich an anderer Stelle ausführlich beschrieben habe.

Zur Aufnahme der Substanz dient der zwischen zwei Zylindern aus Metall verbleibende Hohlraum. Es wurde jedesmal so viel Substanz eingefüllt, dafs der nach Kubikzentimeter genau bekannte Inhalt des Kalorimeters mit Sicherheit ganz ausgefüllt, also die Luft beseitigt war. Fleischsubstanz wurde mittels Mikrotommesser in gewünschter Dicke geschnitten, Fett geschmolzen eingefüllt.

Die Leitungsfähigkeit wurde geprüft sowohl mit sehr kleinem Abstand der Begrenzungsflächen als auch mit etwas gröfserem Abstande. Die Messung geschieht, wie ich an anderer Stelle auf Grund von Angaben von Stefan, Wüllner und Winkelmann und Plank auseinandergesetzt habe, nach der Formel

$$k\,(\text{Leitungsvermögen}) = \frac{P \cdot c \cdot J}{0{,}4343\,F} \cdot \beta \cdot lge\left(1 + \frac{W}{4\,Pe}\right)^{4})$$

1) Poggendorf Ann., CXXXIX.
2) Zeitschr. f. Biologie, Bd. X, S. 73.
3) Glan, Poggend. Annalen, LVIII, S. 131.
4) Archiv f. Hygiene, Bd. XXIV, S. 295, 298, 300.

wovon $Pc$ den Wasserwert der Metallteile des Kalorimeters, $F$ die mittlere Oberfläche aus Innenzylinder und innerer Fläche des Aufsenzylinders, $\beta lg\, e$ die Erkaltungsgeschwindigkeit, $\Delta$ den Abstand der beiden Zylinder, $W$ den Wasserwert der Füllung bezeichnet.

Das Kalorimeter faſste, je nach Abstand der Zylinder, zwischen 8,5 und 21—22 g Fleisch oder Fett, beides genau entsprechend dem berechneten und mit Wasserfüllung kontrollierten Hohlraum zwischen den Zylindern.

Die Untersuchungen machte ich mit Kalorimetern von 1,1 mm und 2,5 Abstand der Zylinderflächen; die Einwirkungeu auf das Resultat waren bei dem einen oder andern Ausmafs sehr gering, wenn ich mit derselben Substanz vergleichende Versuche machte. Für Flüssigkeiten nahm ich meist nur 1,1 mm Abstand.

Zunächst fällt beim Experimentieren der Mangel von einheitlichen Abkühluugswerten ($\beta lg\, e$) auf, sie fallen konstant mehr oder minder schnell. Es ist dies schon bekannt und von Péclet auf das Anhaften einer warm bleibenden Wasserschicht an der Aufsenseite des Apparates zurückgeführt worden. Winkelmann ist gleichfalls dieser Ansicht. Ich liefs mir eine ringförmige Bürste anfertigen und bürstete die Abkühlungsfläche mit dem zu erwartenden Erfolg eines gleichmäfsigen Abkühlungsganges. Ohne diesen Kunstgriff erhält man ganz unbrauchbare Resultate und um so ungenauere, je schneller die Erkaltung erfolgt. Bei Wasser ungünstigere Werte als bei Öl etc.

Die Werte, die ich erhalten habe, weichen insofern von der zu erwartenden Gröfse etwas ab, als sie alle kleiner waren als die für die gleichen Materien von Weber angenommenen Zahlen.

Ich gebe die für die Mittelwerte berechneten Zahlen für $k$, unter der Annahme, als Leitungskonstante für Olivenöl sei 0,000391 gefunden:

| | |
|---|---|
| Olivenöl . . . | 0,000391 |
| Schweinefett . . | 0,000426 |
| Rindsfett . . . | 0,000418 |
| Butter . . . . | 0,000342. |

Für die fleischigen Teile:

| | |
|---|---|
| Längsleitung der Muskelsubstanz . . | 0,000632 |
| Querleitung » » . . | 0,000615 |
| für gekochtes Rindfleisch . . . . . | 0,000547 |
| » Schweinebraten . . . . . | 0,000440 |
| » Magenschleimhaut . . . . . | 0,000647 |
| » Luft . . . . . | 0,000053. |

Die Verschiedenheiten bei Längs- und Querleitung wären sonach nur gering, kaum 3%, die Magenschleimhaut hätte die gleichen Werte wie Muskelfleisch im mageren Zustande.

Das gekochte Fleisch zeigt, wie der Saftverlust es wahrscheinlich macht, eine Minderung von $k$ um 13,1%. Schweinebraten hat durch seinen hohen Fettgehalt eine geringere Wärmeleitung. Das Fett übt überhaupt den wesentlichsten Einfluſs auf auf die Verschiedenheiten der Wärmeleitung gegenüber dem sogar der Einfluſs des Kochens zurücksteht.

Bei den Veränderungen des Wärmeleitungsvermögens durch das Kochen handelt es sich übrigens um einen komplizierten Vorgang, indem hier Dichtigkeitsveränderung neben der Veränderung durch die Leitung in Frage kommen.

Die frischen Fleischproben hatten im Durchschnitt 27,0 Trockensubstanz und 73,0 Wasser bei der frischen Substanz.

Ich habe noch das Experiment ausgeführt und Hühnereiweifs roh untersucht, und ohne etwas zu ändern, dann das Kalorimeter in kochendes Wasser getaucht, das Eiweifs koaguliert und wieder das Leitungsvermögen geprüft. Es mufs ganz frisches Hühnereiweifs angewandt werden. Im Mittel von vier Versuchen verhielt sich das Leitungsvermögen des rohen Eiweifses zum geronnenen wie 100 : 81,9. Der feste Körper hatte also um 19,1% weniger Wärmeleitung als das halbflüssige Eiweifs.

Bei dem Hühnereiweifs findet im allgemeinen keinerlei Änderung der Dichte statt, bei dem Fleische aber wird das gekochte Material reicher an Eiweifs, einem schlechten Wärmeleiter. Die obige Zahl für die Abnahme der Wärmeleitung an gekochtem Fleisch gewinnt daher an Wahrscheinlichkeit.

Die spez. Wärme der Fette kann zu 0,45, das spez. Gewicht derselben zu 0,91, also $P \cdot C = 0{,}409$ angenommen werden. Für Fettgewebe gibt Rosenthal 0,712 spez. Wärme, ich halte die Zahl 0,53 für zutreffender. Frisches Fleisch hat nach meinen Untersuchungen 1054 spez. Gewicht (nach Glan 1070), nach Rosenthal soll die spez. Wärme = 0,825 ausmachen. Ich finde bei direkter Bestimmung 0,828. $P \cdot C = 0{,}869$. Bei gekochtem Fleisch fand ich 1085 spez. Gewicht (für obiges frisches Fleisch), die spez. Wärme läfst sich berechnen:

Wenn 100 Teile frisches Fleisch = 50,0 Braten geben, so gehen zu Verlust 50 Teile Flüssigkeit mit etwa 2—3 g Substanz, Wenn 0,825 das spez. Gewicht, so haben 100 g

| | |
|---|---|
| Fleisch an Wasserwert . . . . . | 82,5 (s. o.) |
| es gehen zu Verlust 50 Teile Flüssigkeit mit rund 3 g Extraktivstoffen.[1]) Eine 6proz. Extraktlösung hat nach meinen Versuchen 1022 spez. Gewicht und 0,916 spez. Wärme, also $47 \times 0{,}916$ | 45,8 |
| Wasserwert pro 50 g Rest . . . . . | 37,7 |

Also spez. Gewicht des Restes 75,4 pro 100. $C = 0{,}754$, Wasserwert für 1 Volumen = 0,818.

Greifen wir auf die oben S. 230 gegebene Formel $t = \frac{R^2 \log\text{nat} \cdot 160}{\pi^2} \cdot \frac{\varrho C}{k}$ zurück, so würde, wenn man von $R$ absieht, die Erwärmungszeit des gekochten und ungekochten Fleisches von dem Quotient $\frac{\varrho C}{k}$ abhängen. Für diese Zahlen haben wir jetzt Unterlagen, nämlich $\frac{\varrho C}{k} = \frac{0{,}869}{0{,}000632}$ für frisches Fleisch = 1375 und für gekochtes $\frac{0{,}818}{0{,}000541} = 1495$.

Die Zeiten werden in letzterem Falle rascher wachsen als im ersteren Falle (von ca. 9%); d. h. der Wärmedurchtritt ungünstiger sein.

1) Es gehen bis 60% aller Extraktivstoffe über.

Wir werden später sehen, dafs die Gröfse $R$ weit variabler ist.

Abgesehen von meinen Versuchen über die Wärmeleitung habe ich noch folgende Experimente ausführen lassen.

In dünne Kupferblechzylinder wurden je 400 g fein zerteilte Fleisch- oder Speckmasse gebracht und in der Mitte der Masse ein Thermometer eingesetzt. Die Durchmesser der Zylinder waren 7 cm und die Höhe 12 cm.

Die Wärmequelle war ein Wasserbad, in das die Zylinder eingetaucht waren. Den Wärmegang von 10 zu 10 Minuten gibt nachstehende Tabelle.

Tabelle I.

| Zeit Min. | Zylinder I | | | Zylinder II | | | Wasserbad |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Temp.-Ablesung | Temp.-Plus gegen Zeit 0 | Temp.-Plus gegen vorausgehende Beobacht. | Temp.-Ablesung | Temp.-Plus gegen Zeit 0 | Temp.-Plus gegen vorausgehende Beobacht. | |
| A | | Speck | | | Speck | | |
| 0 | 12,8° | ± 0 | ± 0 | 13,2° | ± 0 | ± 0 | 40 |
| 10 | 13,2° | + 0,4 | + 0,4 | 13,4° | + 0,2 | + 0,2 | 37 |
| 20 | 14,2° | + 1,4 | + 1,0 | 14,2° | + 1,0 | + 0,8 | 34 |
| 30 | 15,4° | + 2,6 | + 1,2 | 15,4° | + 2,2 | + 1,2 | 32 |
| B | | Fleisch | | | Speck | | |
| 0 | 11,6° | ± 0 | ± 0 | 11,8° | ± 0 | ± 0 | 42 |
| 10 | 12,4° | + 0,8 | + 0,8 | 11,8° | ± 0 | ± 0 | — |
| 20 | 18,0° | + 6,4 | + 5,6 | 13,1° | + 1,3 | + 1,3 | 33 |
| 30 | 22,6° | + 11,0 | + 4,6 | 14,9° | + 3,1 | + 1,8 | — |
| 40 | 25,8° | + 14,2 | + 3,2 | 17,1° | + 5,3 | + 2,2 | 28 |
| 50 | 27,1° | + 15,5 | + 1,3 | 18,7° | + 6,9 | + 1,6 | 28 |
| 60 | 27,5° | + 15,9 | + 0,4 | 19,9° | + 8,1 | + 1,2 | 27 |
| C | | Speck | | | Fleisch | | |
| 0 | 11,9° | — | — | 11,8° | — | — | 42 |
| 10 | 12,1° | + 0,2 | + 0,2 | 13,2° | + 1,4 | + 1,4 | 36 |
| 20 | 13,4° | + 1,5 | + 1,3 | 19,3° | + 7,5 | + 6,1 | 33 |
| 30 | 15,2° | + 3,3 | + 1,8 | 23,9° | + 12,1 | + 4,6 | — |
| 40 | 17,4° | + 5,5 | + 2,2 | 26,6° | + 14,8 | + 2,7 | 28 |
| 50 | 19,2° | + 7,3 | + 1,8 | 27,6° | + 15,8 | + 1,0 | 27 |
| 60 | 20,5° | + 8,6 | + 1,3 | 27,8° | + 16,0 | + 0,2 | 28 |

Reihe A diente als Kontrollversuch, in B und C wurde Fleisch und Fett geprüft und die Vertauschung der Zylinder vorgenommen, um kleine Fehler noch auszuschliefsen. In 30 Minuten nahm der Speck um 2,8° im Mittel zu, das magere Fleisch 11,5°; in der 50sten Minute war bei Fleisch der Wärmeausgleich fast vollendet mit 15,6° Temperaturzuwachs, während Fett erst 7,1° mehr an Wärme gewonnen hatte.

Bildet man für die Zahlen der ersten 20 Minuten den Quotienten der Differenzen der Logarithmen der Temperaturdifferenz zwischen Aufsenwärme und Wärme im Innern der betreffenden Objekte durch die Zeit, so findet sich für beide Reihen übereinstimmend:

Für Fleisch: 0,0164; für Fett: 0,00894.

Die Geschwindigkeit des Wärmeeindringens ist bei Fleisch also 1,82mal gröfser als bei dem Speck gewesen.

## III.

Wenn es sich auch verhältnismäfsig einfach gestaltet, für die Wärmebewegung einen annähernden Ausdruck zu finden, solange es sich um Objekte bei gewöhnlicher Temperatur handelt, begegnen wir den allergröfsten Schwierigkeiten bei Anwendung hoher Temperaturen, welche der Siedehitze nahekommen oder sie überschreiten.

Von Versuchen wissenschaftlicher Art die Materie zu bearbeiten, ist nichts zu berichten; das einzige Objekt, welches überhaupt gelegentlich geprüft wurde, ist noch das Muskelfleisch. Elementare Angaben über das Eindringen der Wärme in dickere Schichten von Fleisch finden sich mehrfach.

Als man die Fleischparasiten entdeckte und in der Wärme ein Mittel erkannte sie zu beseitigen, hat man angefangen, einzelne Messungen zu machen über die Zeit, welche zum Durchdringen grofser Fleischmassen notwendig war. Man bestätigte, was übrigens aus der Küchenerfahrung heraus kaum bezweifelt wurde, das langsame Eindringen der Wärme.

Ähnliche Fragen tauchten dann später wieder auf, als neue Krankheitserreger bakterieller Natur im Fleische nachgewiesen

worden waren und es sich um deren Vernichtung durch Wärme handelte wie bei Milzbrand, Tuberkulose und ähnlichen Krankheiten. Dann kamen Fragen über die Haltbarkeit der Konserven und die hierzu nötigen Temperaturen auf die Tagesordnung. Das schlechte Leitungsvermögen der hier in Betracht kommenden Substanzen, die Notwendigkeit, zwischen flüssigem Wasser und dem in den Zellen fixiertem Wasser bei der Wärmeübertragung zu unterscheiden, hatte schon Rumford beobachtet, indem er auf die langanhaltende Wärme des Apfelbreies und der schnell sinkenden Temperatur der Suppen hinwies, populär ausgedrückte Wahrheiten, die immer wieder vergessen werden.

Die Art und Weise, in der man sich über die Wärmeleitungsfähigkeit des Muskelfleisches für unterrichtet hielt, mag durch einige Angaben erläutert werden.

So finde ich bei Fjord (1867) erwähnt, dafs gering gesalzenes Fleisch in Stücken von $3^1/_4$ Pfd. bei $2^1/_2$ Zoll Länge und 7 Zoll Querschnitt 22 Minuten nach dem Anfeuern in der Mitte (statt 9°) 11° zeigt, nach 30 Minuten 43°, nach 105 Minuten 62°. Auch für den Bratakt finden sich Angaben. Vallin (1881) erwähnt, dafs ein Stück Rindfleisch von 3 Kilo 4 Stunden im Kochen bleiben mufs, ehe die Temperatur 90—100° erzielt wird. In 1 Stunde steigt die Wärme nur bis 50°.[1])

Dann hat man gelegentlich der Untersuchung von Fleischdampfapparaten oder bei der Konservierung von Büchsenfleisch einige Messungen gemacht, die aber für eine systematische Erkenntnis und Erklärung des Wärmedurchgangs im Fleisch nicht zu verwerten sind, eine solche auch nicht zum Ziele hatten.

So zahlreich also auch Messungen über den Temperaturanstieg im Innern eines Fleischstückes sind, weifs man über die wissenschaftliche Seite dieses Vorgangs doch gar nichts. Die Annahmen über das Leitungsvermögen des Fleisches usw.

1) Für Kochzwecke findet sich auch sonst manche hierher gehörige Angabe, auf die ich aber nicht weiter eingehen kann. S. auch Abel, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. XXX, S. 382.

2) Abel, Archiv f. Hygiene, Bd. XXX.

3) Bischoff u. Wintgen, Bd. XXXIV, S. 499.

sind rein willkürliche. Allen Beobachtern ist die grofse Unregelmäfsigkeit der Durchwärmung aufgefallen, man hat aber nicht getrennt zwischen Fehlern der Methodik, die offenbar für manche Verfahren ganz aufserordentlich grofse sind, und zwischen Differenzen, die in der eigentlichen Beschaffenheit der Fleischsubstanz liegen.

An den regellosen und anscheinend unentwirrbaren Ergebnissen tragen zweifellos die technischen Unvollkommenheiten der Methodik einen Anteil. Zur Temperaturmessung genügt das Einschieben von Thermometern zwischen die Muskelbündel keineswegs; ein sicherer Abschlufs läfst sich kaum erzielen, es treten Spalten auf und Flüssigkeit gelangt nur zu leicht direkt in die Tiefe des Fleischstückes Die Art der Trennung, ob mit Querdurchschneidung des Muskels oder parallel zu den Fasern, kommt auch mit in Betracht.

Meine Methodik war folgende: In der Mitte der Fleischstücke war ein Thermoelement gut isoliert bis auf die eigentliche Lötstelle angebracht, ein zweites Element befand sich in einem Gläschen mit Wasser, in dem neben dem Element ein Thermometer sich befand. Ein Galvanometer stand auf 0, wenn beide Lötstellen gleiche Temperatur hatten. Der Weg der thermoelektrischen Messung ist zu bekannt, als dafs ich weiteres anzugeben nötig hätte.

Das Wasser, in welches das Fleisch getaucht wurde, hatte 20° und wurde dann, nachdem das Fleischstück sicher mit dem Thermoelement befestigt war, rasch angewärmt.

Ich bemerke weiter, dafs die mit möglichst reinem Muskelfleisch angestellten Versuche natürlich nicht auf Fleisch mit massigen Fetteinlagerungen und knochenhaltiges Fleisch übertragbar sind.

Innegehalten wurde bei den Experimenten auch eine gleichartige Schnittweise des Fleisches. Die Messungen, über welche ich berichten kann, liegen viele Jahre zurück.

Schon vor etwa 10—12 Jahren hat Professor Bonhoff eine Zahl von Untersuchungen über Wärmedurchgängigkeit des Fleisches in meinem Institut ausgeführt.

In nachstehender Tabelle ist die Qualität des Fleisches, die natürlich nicht immer den Wünschen entsprechen konnte, angegeben.

\+ bedeutet ein schlechtes Stück aus kleinen Muskeln, also mit viel Sehnen und Bindegewebe durchsetzt.
++ ein mittelgutes Stück aus zwei grofsen Muskelmassen,
+++ ein tadelloses Stück aus einer einzigen grofsen Muskelmasse.

Unter Wassertemperatur im Reagensglas vor dem Kochen ist zu verstehen die Temperatur, welche das mit dem zweiten Thermoelement in einem mit Wasser gefüllten Reagensglas vereinigte Thermometer im Moment des Einwerfens des Fleischstückes in das Wasser zeigt.

Die Erwärmungszeiten sind in Minuten angegeben, gerechnet von dem Moment des Einlegens des Fleischstückes bis zu dem Moment, in welchem das Galvanometer 0 Ausschlag gibt, und das Wassergläschen mit dem einen Thermoelement die angegebene Temperatur am Thermometer ablesen liefs.

(Siehe Tabelle II auf S. 245 und 246.)

Die Ergebnisse zeigen Schwankungen, die, was die erste Zeit nach dem Erwärmen anlangt, von der Temperatur, die das Fleisch vor dem Experiment hatte, abhängig sind. Diese Temperatur kann man schätzen nach dem Stande der Nadel des Galvanometers beim Einstechen des Elementes. 1° negativer Ausschlag war rund 0,4°.

Genauer als auf 0,2° werden die Angaben im allgemeinen nicht sein. Es genügt dies für die vorliegende Aufgabe. Den Praktiker wird zunächst die Frage interessieren, wie lange es dauert, bis ein bestimmter Temperaturgrad erreicht wird. Der einfachste Fall ist das Garwerden des Fleisches bei der Temperatur von 100°. Dann haben alle Teile die gleiche Wärme angenommen.

Die einfachste Art der Betrachtung ist die, dafs wir die Endzeiten für den erreichten Gleichgewichtszustand ins Auge

Tabelle II.

| Beschaffenheit des Fleisches | +++ | +++ | +++ | +++ | Zweimal gekochte Fleischstücke. | V.-Nr. 10 | V.-Nr. 11 | V.-Nr. 12 | V.-Nr. 13 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Gröfse desselben | 6 ccm | 6 ccm | 6 ccm | 6 ccm | | 11 ccm | 11 ccm | 11 ccm | 11 ccm |
| Temperatur im Innern | ? von Eis | ? | ? | 21° | | 27° | 24° | 20° | 41° |
| Stand der Galvanometernadel | — 40° | — 3° | — 4° | ± 0° | | ± 0° | ± 0° | ± 0° | ± 0° |
| | Min. | Min. | Min. | Min. | | Min. | Min. | Min. | Min. |
| 20° | 4 | — | — | — | | — | — | — | — |
| 30° | 7 | — | — | — | | 2 | — | 8 | — |
| 40° | 10 | 3 | — | 1 | | 16 | — | 23 | — |
| 50° | 13 | 6 | 2 | 3 | | 28 | 10 | 34 | 10 |
| 60° | 16 | 9 | 4 | 6 | | 38 | 20 | 44 | 21 |
| 70° | 21 | 13 | 8 | 9 | | 48 | 23 | 54 | 33 |
| 80° | 26 | 17 | 12 | 15 | | 55 | 31 | 64 | 45 |
| 90° | 34 | 25 | 19 | 24 | | 68 | 47 | 81 | 65 |
| 100° | 54 | 48 | 35 | 40 | | 100 | 79 | 107 | 108 |
| Farbe im Zentrum | Schwacher Rosaschein | Grau | Grau | Grau | | Grau | Grau | Grau | Grau |
| Spitze des Thermoelements | ½ cm zu tief | Genau Mitte | Genau Mitte | Genau Mitte | | Mitte | Mitte | Mitte | Mitte |
| Wassertemperatur im Reagensglas vor dem Kochen | 10° | 20° | 20° | 21° | | 27° | 24° | 20° | 41° |

| | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Wassertemperatur im Reagensglas vor dem Kochen | 20° | 20° | 20° | 20° | 20° | 20° | 20° | 20° | 20° | 24° | 22° | 10° | 25° |
| | 1. | 2. | 3. | 4. | 5. | 6. | 7. | 8. | 9. | 10. | 11. | 12. | 13. |
| Beschaffenheit des Fleisches | ++ | ++ | ++ | ++ | +++ | +++ | + | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| Größe | 8 ccm | 8 ccm | 8 ccm | 10 ccm | 10 ccm | 10 ccm | 10 ccm | 11 ccm | 11 ccm | 11 ccm | 11 ccm | 11 ccm | 11 ccm |
| Temperatur desselben | ? | ? | ? | ? von Eis | ? von Eis | ? von Eis | ? von Eis | ? | 20° | 24° | 22° | ? von Eis | 25° |
| Stand der Galvanometernadel | — 30° | — 15° | — 20° | — 35° | — 33° | — 50° | — 30° | — 15° | ± 0 | ± 0 | ± 0 | — 10° | ± 0 |
| | Min. | Min | Min. | Min. | Min. | Min. | Min. | Min. | Min. | Min. | Min. | Min. | Min. |
| 20° | 10 | 4 | 8 | 17 | 12 | 14 | 21 | 17 | — | — | — | 10° 13<br>20° 34 | — |
| 30° | 20 | 14 | 11 | 28 | 21 | 24 | 31 | 28 | 10 | 8 | 20 | 45 | 8 |
| 40° | 26 | 20 | 18 | 38 | 28 | 33 | 41 | 38 | 32 | 16 | 34 | 55 | 25 |
| 50° | 35 | 28 | 24 | 45 | 36 | 42 | 49 | 45 | 47 | 27 | 46 | 65 | 40 |
| 60° | 42 | 35 | 32 | 50 | 44 | 51 | 56 | 53 | 60 | 35 | 59 | 75 | 53 |
| 70° | 52 | 43 | 41 | 60 | 50 | 60 | 65 | 61 | 69 | 44 | 71 | 85 | 63 |
| 80° | 64 | 54 | 51 | 72 | 57 | 73 | 78 | 69 | 83 | 53 | 87 | 93 | 78 |
| 90° | 80 | 71 | 69 | 82 | 72 | 92 | 97 | 83 | 102 | 76 | 105 | 112 | 100 |
| 100° | 100 | 89 | 88 | 114 | 113 | 141 | 139 | 124 | 132 | 130 | 152 | 133 | 130 |
| Farbe im Zentrum | Grau | Schwacher Rosaschein | Schwacher Rosaschein | Grau | Grau | Grau | Grau | Grau | Grau | — | — | — | Dampftopf |
| Spitze des Thermoelements | Genau Mitte | Genau Mitte | 1 cm unterhalb der Mitte | $^1/_2$ cm unterhalb der Mitte | Genau Mitte | Genau Mitte | Genau Mitte | Mitte | Genau Mitte | — | — | — | — |

fassen. Wie man aus den Tabellen sieht, liegen trotz der sorgfältigen Auswahl an Material doch nicht unerhebliche Differenzen vor, die in der Natur der Substanz begründet sein mögen. Die Mittelwerte gleichen die gröberen Schwaukungen genügend ab, um mit den Zahlen weiter operieren zu können.

Tabelle III.

**Minutenzahl für die erreichten Temperaturen würfelförmiger Stücke von nachfolgenden Seitenlängen.**

| Temp. im Fleisch | 6 | 8 | 11 | 11 gekocht Nr. 10, 11, 12, 13, |
|---|---|---|---|---|
| 20 | — | 7,3 | — | — |
| 30 | — | 15,0 | 20,5 | 2,5 |
| 40 | 3,5 | 21,3 | 32,5 | 9,7 |
| 50 | 6,6 | 29,0 | 44,5 | 20,5 |
| 60 | 8,7 | 36,3 | 55,4 | 30,7 |
| 70 | 12,8 | 43,3 | 70,9 | 39,5 |
| 80 | 17,5 | 53,8 | 78,0 | 48,7 |
| 90 | 25,5 | 73,3 | 98,2 | 65,2 |
| 100 | 44,2 | 93,3 | 136,2 | 98,5 |

Die Durchdringungszeiten sind für grofse Stücke von denen der kleinereu wesentlich verschieden, was zunächst einer weiteren Begründung nicht bedarf. Die ersten Erwärmungsgrade werden verhältnismäfsig schnell durchlaufen. Die definitive Einstellung läfst aber lange auf sich warten, ein Umstand, der in der Abnahme der Triebkräfte für die Wärme nämlich der Differenz zwischen Kerntemperatur und Oberfläche vorläufig seine Erklärung finden mag. Ich bemerke aber, dafs sich aus den hier roh vorliegenden Zahlen ein sicheres Urteil über die Schnelligkeit der Erwärmung keineswegs gewinnen läfst. Wir kommen darauf ausführlicher zurück.

Fassen wir zunächst den Endeffekt der Erwärmung in Betracht, so wurde die Endtemperatur von 100° erreicht

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | bei | 6 ccm | in | 44,2 Min. |
| | » | 8 | » | 93,3 » |
| (s. Tabelle II) | » | 10 | » | 126,7 » |
| | » | 11 | » | 136,3 » |

Daraus folgt, dafs die Zeiten sich umgekehrt proportional dem Quadrat des halben Durchmessers der Fleischstücke verhalten. Denn

$$\begin{aligned} & 6^2 : 8^2 : 10^0 : 11^2 \\ = & 36 : 64 : 100 : 121 \\ = & 1 : 1{,}77 : 2{,}8 : 3{,}36 \end{aligned}$$

$$\text{und } 44{,}2 : \frac{93{,}3}{1{,}77} : \frac{126{,}7}{2{,}8} : \frac{136{,}3}{3{,}36}$$

a b c d

gibt 44,2 : 52,6 : 45,2 : 40,5.

Dazu ist zu bemerken, dafs die Anfangstemperaturen waren bei

a = 16° im Mittel
b = 11,3° » »
c = 5,2° » »
d = 20,3° » »

Zwischen 6—11 cm Durchmesser (0,22—1,33 kg) kann man also annehmen, dafs die obenbenannte Gesetzmäfsigkeit besteht. Denn die gefundenen Abweichungen sind bei einem Objekt, das einer feineren Beobachtung solche Schwierigkeiten entgegenstellt wie der Muskel, ziemlich belanglos. Zum Teil erklärt sich die Abweichung von b und c durch die niedrigere Anfangstemperatur.

Über die Anwendung des Satzes, dafs die Zeiten gleicher Temperatur von der Gröfse der Stücke abhängig sei, auf alle Zwischenstufen zwischen 20—100° kann man sich an dieser Stelle noch nicht aussprechen. Für 70° besteht die Gesetzmäfsigkeit für die gröfseren Fleischstücke, für das kleinste aber nicht.

Es sind die Zeiten für 70°

bei 6 cm Seitenlg. 12,8 Min., während die Rechnung zeigt 21,2 Min.,
» 8 » » 43,3 » » » » » 37,3 »
» 10 » » 56,2 » » » » » 59,0 »
» 11 » » 70,9 » » » » » 70,9 »

wenn man von dem Werte für 12 cm ausgehend die übrigen ableitet.

Die bisherigen Beobachter, deren Zahlenergebnisse für die Erwärmung des Fleisches so aufserordentlich schwankend gewesen sind, haben als Hauptgrund immer nur die ungleiche Zusammensetzung der Stücke (Fettgehalt, Knochen) angesehen; ein solcher Einflufs soll nicht in Abrede gestellt werden. Er ist aber noch nicht das punctum saliens in der Sache.

Der Hauptfehler, warum man bisher die allermannigfachsten Resultate gefunden hat, lag in der ungenügenden Kenntnis von den Veränderungen des Fleisches in der Hitze. Durch die Arbeiten meines Laboratoriums sind diese eigenartigen Vorgänge im einzelnen aufgeklärt, die Ergebnisse aber zu wenig beachtet worden.

Von Nothwang[1]) wurde festgestellt, wie sich bei der Siedetemperatur unter verschiedenen Umständen der Gehalt an Wasser, Salzen, Extraktivstoffen ändert, sei es, dafs die Fleischsorten in Berührung mit Wasser oder Dampf erwärmt waren. Ferrati[2]) hat festgestellt, welche Änderungen bei sehr verschiedener Temperatur und bei verschiedenen als »Fleisch« im weiteren Sinne bezeichneten Organen vor sich gehen; es hat sich dabei die wichtige Tatsache ergeben, dafs die Festigkeit, Zähigkeit und Derbheit des Fleisches mit steigender Temperatur immer zunimmt. Die zu Sterilisationszwecken für Fleisch vorgeschlagene Temperatur über 100° ist vom Ernährungsstandpunkte aus betrachtet nicht ohne Bedenken.

F. W. Milroy[3]) hat die chemischen Veränderungen des Fleisches bei verschiedener Temperatur näher verfolgt und dartun können, dafs die Unsitte, fast rohes oder halbgares Fleisch zu genieſsen, in der Annahme, im halbgaren Fleisch fänden sich noch sehr viel unkoagulierte Eiweifsstoffe, durch das Experiment widerlegt werde.

Als einen Ausdruck der Volumänderung können wir die Gewichtsverluste des Fleisches in der Wärme betrachten. Von

1) Archiv f. Hygiene, Bd. XVIII, S. 80.

2) Dasselbe, Bd. XIX, S. 317.

3) Dasselbe, Bd. XXV, S. 154.

Ferrati wurden darüber systematische Versuche angestellt; ich gebe nachstehend unter Umrechnung der Originalzahlen an, um wie viele Prozente Gewichtsverlust das Fleisch bei gewissen Temperaturintervallen sich ändert:[1])

| | | |
|---|---|---|
| bei 15° | 0,04% | (= autolytische Vorgänge) |
| 15—45° | 3,57% | |
| 45—56° | 7,21% | |
| 56—66° | 15,83% | |
| 66—75° | 10,65% | |
| 75—86° | 8,30% | |
| 86—95° | 1,73%. | |

Darüber hinaus schreitet die Schrumpfung des Fleisches weiter, sie interessiert uns hier zunächst nicht.

Läfst man das Fleisch länger als zur Erreichung des Wärmegleichgewichtes nötig ist, in der Wärme, so findet nochmals eine Zusammenziehung statt, die ja nicht so umfangreich ist als die erste, aber doch mehrere Prozent betragen kann.

Ein Fleisch, das (500 g) eine Stunde im Dampfkochtopf gehalten wird, gab in dieser Zeit 170 g Saft ab,
in der zweiten Stunde noch . 12 g,
in der dritten Stunde . . . 2,5 g.
Meist werden die in der zweiten und dritten Stunde erhaltenen Werte sogar etwas gröfser sein.

Die oben nach Ferrati berechneten Werte gelten nur für den Fall des Gleichgewichtszustandes; richtet man sich nur nach der Kerntemperatur einer in steigender Erwärmung befindlichen Fleischmasse, so ist die Aufsentemperatur nicht gleich dem Kern, sondern gleich dem umgebenden Medium. Die Schrumpfung des Fleisches macht sich also dann, weil $\frac{100 + \text{Kerntemperatur}}{2}$ höher als die Kerntemperatur selbst, schon früher geltend, als nach obigen Zahlen sich ergäbe.

Im Anschlusse hieran möchte ich noch folgendes bemerken. Bei der Einwirkung der Wärme auf Fleisch zieht sich dieses

1) Archiv f. Hygiene, Bd. XIX, S. 319.

nicht gleichmäfsig zusammen, sondern die Längskontraktion der Faser ist die erheblichste.

Bei einem mageren Fleisch, das beim Dünsten in Dampf von 100 Gewichtsteilen auf 50,4 zurückgegangen war, war die Kontraktionsverkürzung . . . . . 100 : 47,5,
die Veränderung der Seitenlänge des Querschnittes . 100 : 84,8
und die der mittleren Querschnittfläche . . . . . 100 : 92,8.

Die Deformation nimmt an Stücken mit wechselnder Faserrichtung die allerabenteuerlichsten Formen an; ein unregelmäfsig geformtes Stück kann zur Kugel werden, der Würfel plattet sich ab, Spitzen und Zacken entstehen. Die Längskontraktion kann sich frei entwickeln oder gehemmt sein. Je nach dem anatomischen Bau und der Schnittführung kann man also die allermannigfaltigsten Ergebnisse erzielen.

Nachstehend (S. S. 252) folgt die graphische Darstellung des fortschreitenden Gewichtsverlustes[1]) des Muskelfleisches beim Erwärmen, und die Retraktion der Längsfasern (punktierte Linien) (Ordinaten links), so wie die Veränderung der Werte für PC bei Muskelfleisch (Ordinaten rechts). Der Abszisse gibt die Temperaturen.

Manche Fleischarten, wie z. B. das Fleisch der Fische, wird in der Hitze ganz anders beeinflufst als das der Säugetiere, es nimmt weniger an Gewicht und Volumen beim Erhitzen ab.

Mit der Gerinnung der Eiweifsstoffe ist nur in bestimmten Organen eine Änderung der Form und Verkleinerung des Raumes verknüpft, viele Eiweifsstoffe gerinnen unter Gleicherhaltung von Form und Masse, z. B. das Hühnereiweifs, der Dotter, das Serum und Blut.

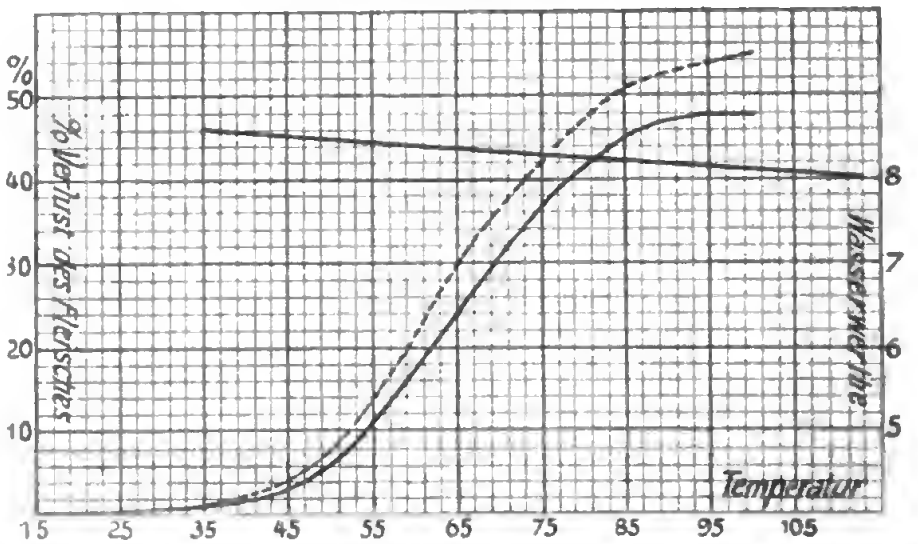
Mit der Volumverkleinerung des Fleisches ändert sich für den Einstrom der Weg für das Eindringen der Wärme. Die Berührung mit den umgebenden Medien wird zugleich inniger, weil ja die Oberfläche im Verhältnis zur Masse gleichfalls mit abnehmender Gröfse des Stückes wächst, wie die nachstehenden Zahlen zeigen.

1) Die Summen bis zu einer bestimmten erreichten Temperatur.

Tabelle IV.

| Seitenlänge | die Gewichte der Stücke sind | die Oberfläche | auf 1 Kilo trifft Oberfläche |
|---|---|---|---|
| 6 cm | 226 g | 144 | 637 |
| 8 » | 539 » | 256 | 477 |
| 10 » | 1054 » | 400 | 383 |
| 11 » | 1403 » | 484 | 344 |

**Gewichtsabnahme des Muskelfleisches bei der Erwärmung.**
100 Teile verlieren Gramm [1]).




Wenn die Wärme in das frische Fleisch eindringt und dieses zur Kontraktion zwingt, mufs eine Wärme aufgewandt werden, die der Erwärmung der ganzen Fleischmasse auf die Endtemperatur entspricht, denn der ausgepreſste Saft nimmt und mufs seinen Weg durch die warme Aufsenschicht nehmen; er strömt mit seinem dem Fleisch entnommenen Wärmevorrat ab.

Ein Fleischstück von 11 cm Seitenlänge hat 1,403 × 0,825 = 1157 g Kal. Wasserwert.

Für die Erhöhung von 20—100° müssen eintreten 92,56 kg Kal.

Dabei ist es aber allmählich zusammengeschrumpft, so dafs sein Endwasserwert statt 1157 nur mehr 544 g Kal. ausmacht. Erwärme ich diese Substanz wieder, so braucht sie nur mehr 43,52 Kilo Kal.

1) Der Längenverlust ist gröfser; die restierende Länge = 0,91 × dem verbleibenden Gewicht.

aufzunehmen, um 100° zu erreichen. Die Aufnahme bei zweitmaliger Erwärmung wird erleichtert durch die geringe Wegstrecke und die gesteigerte relative Oberfläche, gehemmt durch die Abnahme des Leitungsvermögens (— 13,1%).

Damit dürften die ersten elementaren Fragen, die man aus dem Experimente beantworten will, erledigt sein.

Bei den bis jetzt bekannt gewordenen Versuchen ist man über die Feststellung der Erwärmungszeit nicht hinausgekommen, noch weniger hat man es unternommen, weitere gesetzmäfsige Beziehungen abzuleiten.

## IV.

Will man nicht sich mit der allgemeinen Tatsache, dafs eben die Wärme ungleich ins Fleisch eindringt, genügen lassen, sondern weitere Schlüsse ziehen, so mufs man einen besonderen Weg der Rechnung einschlagen.

Ich wünschte einen Ausdruck zu erhalten dafür, ob in einzelnen Zeitperioden das Eindringen der Wärme gleichartig oder ungleichartig sei. Zu diesem Behufe habe ich zuerst die einzelnen Serien zu Mittelwerten für je eine Dicke des Fleisches zusammengelegt (s. S. 247).

Sodann wurde berechnet, wie grofs jeweils das Temperaturintervall zwischen Zentrum des Fleisches und der äufseren Begrenzung war (also bei 20° = 80, bei 30° = 70), und ähnlich war für das Erkaltungsgesetz die Konstante berechnet worden durch Division mit der Zeit in die Differenzen der Logarithmen der eben genannten Temperaturwerte.[1])

1) Zwei Beispiele der Berechnung mögen genügen.

Fall I. 6 cm Durchmesser.

| Temperatur-Differenz aufsen u. Kern | Zeitdauer der Erwärmung in Minuten | Differenz der Zeit in jedem Intervall | |
|---|---|---|---|
| 50° | 4,4 | | |
| | | + 3,0 | |
| 40° | 7,4 | | |
| | | + 4,2 | |
| 30° | 11,2 | | |
| | | + 4,4 | Minuten |
| 20° | 15,6 | | |
| | | + 9,8 | |
| 10° | 25,4 | | |
| | | + 18,8 | |
| 0° | 44,2 | | |

Diese gesetzmäfsige Beziehung gilt freilich als ganz genau nur, wenn das Intervall etwa 40° nicht überschreitet; aber es kommt hier auch darauf an, wie grofs diese Differenzen sind.

Fall II. 8 cm Durchmesser, Bezeichnung ebenso.

| | | | |
|---|---|---|---|
| 80° | 7,3 | | |
| | | + 7,7 | |
| 70° | 15,0 | | |
| | | + 6,3 | |
| 60° | 21,3 | | |
| | | + 8,3 | |
| 50° | 29,0 | | |
| | | + 7,3 | |
| 40° | 36,3 | | Minuten |
| | | + 10,0 | |
| 30° | 43,3 | | |
| | | + 10,5 | |
| 20° | 53,8 | | |
| | | + 19,5 | |
| 10° | 73,3 | | |
| | | + 20,5 | |
| 0° | 93,3 | | |

und weiter für Fall I

$$\frac{lg \cdot 50 - lg\, 40}{3{,}0 \text{ Minuten}}$$

$$\frac{1{,}6989700}{1{,}6020600} = \frac{0{,}0969100}{0{,}0969100} = \frac{0{,}0969100}{3} = 0{,}0323 \text{ oder } \frac{0{,}0323}{60} \text{ f. d. Sek.}$$

$$\frac{1{,}6020600}{1{,}4771213} = \frac{0{,}1249387}{0{,}1249387} = \frac{0{,}1249387}{4{,}2} = 0{,}0297$$

$$\frac{1{,}4771213}{1{,}3010300} = \frac{0{,}1760913}{0{,}1760913} = \frac{0{,}1760913}{4{,}4} = 0{,}0402$$

$$\frac{1{,}3010300}{1{,}0000000} = \frac{0{,}3010300}{0{,}3010300} = 0{,}3010300 = 0{,}0307$$

$$1{,}0000000 = \frac{1{,}0000000}{18{,}8} = 0{,}0529.$$

| | | |
|---|---|---|
| Für Fall II. | 0,0075 | 0,0125 |
| | 0,0106 | 0,0167 |
| | 0,0095 | 0,0154 |
| | 0,0133 | 0,0500 |

Als ich die in folgenden Versuchen benutzte leere, d. h. mit Luft gefüllte Metallkugel in einem Wasserbad von 25° erkalten liefs, waren die Werte[1])

| $T-t$ | | | |
|---|---|---|---|
| 65 | | 40 | |
| | 0,0024 | | 0,0031 |
| 60 | | 35 | |
| | 0,0028 | | 0,0031 |
| 55 | | 30 | |
| | 0,0027 | | 0,0030 |
| 50 | | 25 | |
| | 0,0032 | | 0,0031 |
| 45 | | 20 | |
| | 0,0031 | | 0,0031 |
| 40 | | 15 | |
| | 0,0031 | | 0,0031 |
| | | 10 | |
| | | | 0,0031 |
| | | 5 | |
| | | | 0,0031 |
| | | 0 | |
| | | | 0,0023 |

Ähnlich für den umgekehrten Vorgang, der Erwärmung. Hierbei differierten die anfänglichen Werte nicht unerheblich, bis sich ein Gleichgewicht hergestellt hatte. Dann entsprachen die Zahlen den obigen

| | |
|---|---|
| 0,0030 | 0,0030 |
| 0,0029 | 0,0028 |
| 0,0031 | 0,0025. |

Der letzte Wert schwankt, weil hier der Punkt des scharfen Erreichens wegen der Langsamkeit des Temperaturanstiegs beim Ablesen Schwierigkeiten macht.

Diese Zahlen der Tabelle V sind ein Ausdruck für die Geschwindigkeit des Erwärmens des Fleisches. Das Resultat zeigt in jeder Reihe eine Zunahme der Werte mit dem Unterschiede, dafs speziell bei niedrigen Temperaturen zwischen den einzelnen Proben grofse Differenzen sich finden. In der ersten Zeit dauert es selbstredend bei sehr dicken Schichten am längsten,

1) Dies sind natürlich keine Werte für das Leitungsvermögen der Luft!

bis überhaupt ein nennenswerter Wärmezuwachs eintritt. Die Zunahme der Erwärmungsgeschwindigkeit entspricht also gerade dem Gegenteil von dem, was man aus einer oberflächlichen Betrachtung der Zahlen hätte herauslesen können. Die Geschwindigkeit der Erwärmung ist mit Zunahme der Temperatur nicht abnehmend, sondern wachsend.

Tabelle V.

Werte für $\frac{\log t_1 - t_2}{\text{sec.}}$

| Wirkliche Temp. | $T-t$ | Seitenlänge der Fleischstücke | | | | Gewichtsverlust nach Ferrati |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 6 cm | 8 cm | 10 cm | 11 cm | |
| 30 | 70 | — | 0,00018 | 0,00013 | 0,00010 | 3,6 % |
| 40 | 60 | — | 0,00016 | 0,00016 | 0,00010 | |
| 50 | 50 | 0,00054 | 0,00021 | 0,00017 | 0,00016 | 7,21 » |
| 60 | 40 | 0,00049 | 0,00021 | 0,00030 | 0,00021 | 15,8 » |
| 70 | 30 | 0,00067 | 0,00028 | 0,00026 | 0,00027 | 10,6 » |
| 80 | 20 | 0,00051 | 0,00026 | 0,00031 | 0,00028 | 8,3 » |
| 90 | 10 | 0,00086 | 0,00083 | 0,00033 | 0,00042 | 1,7 » |
| 100 | 0 | — | — | — | — | — |

Das kann nicht in einer leichteren Durchdringung auf Grund des geänderten Leitungsvermögens begründet sein, sondern es ist der Ausdruck für die stetige Abnahme des Volumens, der Abnahme der Wegstrecke für die Weiterbewegung der Wärme.

Ob aber die Volumänderung den einzigen wesentlichen Grund für den eigenartigen Wärmeanstieg darstellt, ist nicht entschieden; sind doch die Wirkungen der Erwärmung organisierter Massen keineswegs genau genug bekannt. Ich habe mich daher zu unterrichten versucht, ob nicht auch die Veränderungen beim Festwerden der eiweifsartigen Stoffe, die Prozesse der Gerinnung, Momente von einiger Bedeutung seien.

Ehe wir zu weiteren Schlüssen kommen, will ich eine Reihe von Messungen an Eiweifssorten betrachten. In drei ganz gleich grofsen kugligen Kolben von $r = 4$ wurde Eiweifs, Dotter und Blut gefüllt und im Wasserbad von 99,6° die Temperatur verfolgt, das Thermometer wurde scharf in den Mittelpunkt der

Kugel gebracht. Aus den Originalablesungen wurden in oben gesagter Weise die Werte für die Erwärmungsgeschwindigkeit pro 1 Sekunde abgeleitet und in folgende Tabelle eingetragen.

Tabelle VI.

$r = 4{,}0$ cm $\frac{\log t_1 - t_2}{\text{Sekunden}}$.

| $T-t$ | Eiweifs | Dotter | Blut |
|---|---|---|---|
| 55 | 0,00055 | — | — |
| 50 | 0,00055 | — | — |
| 44 | 0,00032 | 0,00038 | — |
| 40 | 0,00032 | 0,00038 | — |
| 34 | 0,00035 | 0,00045 | 0,00033 |
| 30 | 0,00035 | 0,00045 | 0,00059 |
| 24 | 0,00039 | 0,00061 | 0,00059 |
| 20 | 0,00039 | 0,00061 | 0,00040 |
| 15 | 0,00046 | 0,00061 | 0,00044 |
| 10 | 0,00043 | 0,00037 | 0,00032 |
| 5 | 0,00044 | — | — |
| 0 | — | — | — |

Man erkennt ohne weiteres eine sehr weitgehende Übereinstimmung in den einzelnen Werten, eine weit bessere als bei dem Fleisch erhalten worden ist. Zwischen 65—90° erwärmt sich Dotter am schnellsten, Eiweifs weniger schnell und Blut nimmt eine mittlere Stellung ein, gleichartig scheint die Erwärmung bei allen dreien nicht, eher erst abfallend, dann wieder steigend.

Die Versuche wurden mit Hühnereiweifs genauer wiederholt. Aus vielen Versuchen gebe ich nur die in Tabelle VII auf Seite 258 angegebenen Beispiele.

Der Verlauf des Wärmeganges ist ein ganz eigenartiger. Nach einem raschen Eindringen der Wärme nimmt die Erwärmungsgeschwindigkeit allmählich ab bis zu einem Minimum bei 55° oder 60°, sodann erhebt sich die Leitungsgröfse, um bei 70° und weiter annähernd konstant zu bleiben. Um Zufälligkeiten kann es sich dabei nicht handeln. Ich habe das Experiment wiederholen lassen. Der Erwärmungsgang blieb derselbe. Das Minimum zeigt sich bei 60° Temperatur.

Tabelle VII.

| $T-t$ | I | | II | | Mittel | | Wirkl. Temp. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | roh | gekocht | roh | gekocht | roh | gekocht | |
| | | | | | | | Grad |
| 71 | 0,00130 | 0,00022 | 0,00220 | 0,00017 | 0,00170 | 0,00022 | 30 |
| 66 | 0,00140 | 0,00027 | 0,00220 | 0,00018 | 0,00180 | 0,00022 | 35 |
| 61 | 0,00060 | 0,00027 | 0,00090 | 0,00023 | 0,00075 | 0,00025 | 40 |
| 66 | 0,00012 | 0,00032 | 0,00050 | 0,00025 | 0,00031 | 0,00028 | 45 |
| 51 | 0,00017 | 0,00034 | 0,00031 | 0,00026 | 0,00024 | 0,00030 | 50 |
| 46 | 0,00018 | 0,00036 | 0,00036 | 0,00034 | 0,00027 | 0,00035 | 55 |
| 41 | 0,00019 | 0,00032 | 0,00009 | 0,00027 | 0,00014 | 0,00029 | 60 |
| 36 | 0,00023 | 0,00038 | 0,00023 | 0,00032 | 0,00023 | 0,00036 | 65 |
| 31 | 0,00025 | 0,00038 | 0,00023 | 0,00032 | 0,00024 | 0,00036 | 70 |
| 26 | 0,00022 | 0,00033 | 0,00025 | 0,00028 | 0,00024 | 0,00031 | 75 |
| 21 | 0,00028 | 0,00038 | 0,00030 | 0,00032 | 0,00029 | 0,00036 | 80 |
| 16 | 0,00027 | 0,00037 | 0,00031 | 0,00029 | 0,00029 | 0,00033 | 85 |
| 11 | 0,00024 | 0,00034 | 0,00031 | 0,00025 | 0,00027 | 0,00028 | 90 |
| 6 | — | — | — | — | — | — | — |

Darunter und darüber ist die Wärmeleitung gröfser, und zwar besonders grofs bei niedrigen Temperaturen, bei denen gerade die Wärmebewegung im Fleisch so sehr gering gewesen ist.

Der Ursache für den so merkwürdigen Gang der Erwärmung kann man durch den Versuch näher treten, wenn wir das Eiweifs ein zweites Mal erwärmen. Die vorstehende Tabelle enthält unter der Bezeichnung Mittel eigentlich drei Versuche, indem in der einen Reihe das Eiweifs dreimal erwärmt wurde (einmal roh, zweimal gekocht). Da hierbei bei den vorher gekochten Proben sich Abweichungen nicht ergaben, wurde auf weitere Wiederholungen verzichtet. Die Erwärmungszahlen geben zwar keine eigentliche Konstante, aber bis 40° sind die Abweichungen nicht erheblich, und liegen unter dem späteren Mittel. Beim koagulierten Eiweifs ist nach meinen Zahlen die Erwärmung also sehr gleichmäfsig. Wie ist aber die Abweichung des rohen Eiweifses zu erklären?

Die Betrachtung führt uns zu folgenden Ergebnissen. Die erste Steigerung der Temperatur des einer warmen Umgebung ausgesetzten Eiweifses führt zu einem lebhaften Wärmedurchgang, an einem solchen sind Strömungen der Flüssigkeit

beteiligt. Doch habe ich absichtlich, um solche zu verhinderu, das Eiweifs so genommen, wie man es direkt beim Öffnen des Eies erhält, also nicht etwa in der mehr flüssigen Form, wie es nach dem Schlagen zu Eiweifsschnee sich sammelt.

Bei einer wirklich flüssigen Masse ist der Wärmegang auch ein weit rascherer, z. B. bei Milch, wo sich als Erwärmungswert fand:

| | |
|---|---|
| 71 | |
| | 0,00317 |
| 66 | |
| | 0,00356 |
| 56 | |
| | 0,00369 |
| 51 | |
| | 0,00320 |
| 46 | |
| | 0,00312 |
| 41 | |

Man versteht, dafs diese Bewegung des Eiweifses abnimmt mit der Gerinuung der äufseren, der Metallkugeloberfläche auliegenden Schichten und der Zunahme der Zähigkeit, die der Gerinnung vorausgeht. Aber auffallend bleibt der Temperaturabfall bei der Gerinnung in dem Zentrum des Eies. Ich dachte, dafs zum Teil die Eutwicklung von Gasen, die ich manchmal beobachtet habe, einen Einflufs ausübe.

Wenn man Hühnereiweifs erwärmt, so wird es für ein kurzes Temperaturintervall dünuflüssiger. Dann verliert sich diese Eigenschaft und zwischen 50—60° beginnt schon die partielle Gerinnung, die dann immer weiter fortschreitet. Achtet man genauer auf die Vorgäuge, so findet man manchmal eine mehr oder minder starke Volumvermehrung, eine Blähung der Masse, und unverkennbar das Auftreten von Luftbläschen oder Flüssigkeitsbläschen in der Masse. Es richtet sich dies aber, wie ich finde, nach der Natur der Eier, indem frische Eier diese Tendenz zur Blähung nicht besitzen, wohl aber die alte Ware.

Erhitzt man Hühuereiweifs langsam und ohne Blasenbildung, so kommt keine Volumzunahme zustande. Ich verwendete Eiweifs von 1042,1 sp. Gew. und brachte etwas davon in ein

Pyknometer, und liefs es dann durch Erwärmen im warmen Wasserbade gerinnen, wobei es etwas au Wasser verlor.

| | | |
|---|---|---|
| Frisch . . | 17,476 g | = 16,769 ccm |
| geronnen . | 17,452 » | — 0,025 » |
| | — 0,024 g | = 16,744 ccm. |

Das Pyknometer nahm noch 5,092 ccm Wasser auf, nachdem das Eiweifs geronnen und wieder abgekühlt war. Der ganze Kubikinhalt war

| | |
|---|---|
| | 21,878 ccm |
| ab . . . . . | 5,092 » |
| | 16,786 ccm. |

Das Eiweifs müfste also nach dem Erhitzen diesen Raum eingenommen haben, es mafs vor dem Erhitzen

| | |
|---|---|
| | 16,769 ccm |
| Ausdehnung . . . . . | 0,017 ccm = + 0,1 %. |

Hat man aber alte Eier und erhitzt auf höhern Grad als zur eigentlichen Koagulation nötig ist, so kann die Volumzunahme in der Wärme 21 — 23 % ausmachen. Schichtet man Öl über das Eiweifs, so zeigen sich deutlich die aufsteigenden Gasbläschen, und zwar sind sie, wie man beim Evakuieren unter der Luftpumpe sieht, in der ganzen Masse verteilt. Nach dem Abkühlen sinkt die Eiweifsmasse in sich zusammen, aber nicht mehr ganz.

In solchen Fällen konnte etwas Wärme durch die Verflüchtigung von Gasen verloren gehen. Die Gasentwicklung beim Erhitzen mancher Nahrungsmittel habe ich schon vor langer Zeit näher untersuchen lassen mit dem Resultate, dafs unter allen Umständen dabei $CO_2$ auftritt[1]), daneben manchmal $SH_2$ und seltener Merkaptan.

Die Eier entwickeln, auf 500 g frisches Material gerechnet,

| | | |
|---|---|---|
| | 0,149 g = 0,298 g | pro Kilo an $CO_2$, |
| oder in ccm gerechnet | 149 ccm | » » |
| | 14,9 | pro 100 g Substanz. |

1) Archiv f. Hygiene, Bd. XIX, S 133.

Denkt man sich die Gasmasse auch noch bei Siedetemperatur ausgedehnt, so reicht sie hin, die beobachteten Erscheinungen zu erklären.

Diese Gasentwicklung erfordert selbstverständlich eine gewisse Wärmemenge, die zunächst der Umgebung entnommen werden mufs.

Den eigentlichen Vorgang der $CO_2$-Abspaltung kennen wir nicht, und es läfst sich daher auch nur approximativ schätzen, welche Wärmemenge etwa durch den Akt des Entstehens der genannten $CO_2$-Mengen gebunden wird. Die Kugel war gefüllt mit 372 g Eiweifs. Die absolute Gröfse der $CO_2$-Bildung kann demnach 0,108 g betragen haben ($372 \cdot \frac{0{,}149}{500} = 0{,}108$ g). Durch den einfachen Übergang von flüssiger zu gasförmiger $CO_2$ wird pro Molekül 5600 g-Kal. frei = 127 Kal. pro 1 g $CO_2$ und 13,7 g-Kal. für die Füllung meiner Kugel, eine Menge, die gegenüber dem Wärmestrom von etwa 23840 g-Kal., welche zur Erwärmung der ganzen Masse nötig waren, verschwindend ist. Wenn die Zersetzung etwa so erfolgt, wie durch Spaltung einer salzartigen Verbindung, z. B. $2\,NaHCO_3 = Na_2CO_3 + H_2O$ (flüssig) + $CO_2$ (Gas), dann sind 19960 g Kal. notwendig, die Reaktion zu vollenden = 451 pro 1 g $CO_2$ = 48,7 g-Kal. pro 0,108 g $CO_2$.

Manchmal mögen die genannten Erscheinungen der Gasbildung gewifs an dem Wärmegang beteiligt sein. In meinem Experimente kann dies aber nicht in nennenswertem Grade geschehen sein. Der Beweis liegt noch, abgesehen von vorstehender Rechnung, im folgenden.

Um die Möglichkeit der Entwicklung von Gasblasen zu hemmen, setzte ich dem Eiweifs (372 ccm) 3 ccm 28proz. Kalilauge zu, was mehr als ausreichend ist, Kohlensäuremengen, wie sie hierbei entstehen könnten, zu binden. An den Zahlen hat diese Versuchsänderung (s. Tab. VIII) so gut wie nichts geändert. Das Minimum liegt an derselben Stelle (60—65°) wie in dem Mittel der Tabelle S. 258, im übrigen erhielt ich fast bis zur fünften Dezimale dasselbe Resultat.

Tabelle VIII.

**Eiweifs + 3 ccm konz. Kalilauge.**

| $T-t$ | Frisches Eiweifs | Das vorige nochmals erwärmt |
|---|---|---|
| 71 | 0,00173 | 0,00017 |
| 66 | 0,00173 | 0,00023 |
| 61 | 0,00123 | 0,00024 |
| 56 | 0,00135 | 0,00027 |
| 51 | 0,00099 | 0,00028 |
| 46 | 0,00031 | 0,00029 |
| 41 | 0,00010 | 0,00030 |
| 36 | 0,00021 | 0,00034 |
| 31 | 0,00023 | 0,00034 |
| 26 | 0,00028 | 0,00037 |
| 21 | 0,00027 | 0,00030 |
| 16 | 0,00029 | 0,00034 |
| 11 | 0,00028 | 0,00035 |
| 6 | — | — |

Das Eiweifs war geronnen[1]), so dafs sich eine nochmalige Erwärmung ausführen liefs. In dieser Reihe mit geronnenem Eiweifs fehlt das anfänglich rasche Steigen der Wärme, wie dies auch früher entgegengetreten war. Die Übereinstimmung der Experimente ist eine ganz vorzügliche; das Resultat beweist, dafs die Beweglichkeit des Eiweifses der Hauptgrund für den eigenartigen ersten Erwärmungsgang des rohen Eiweifses ist. Wenn weiter, wie bewiesen, die Wärme durch Strömung im Eiweifs verteilt wird, so ist das Temperaturgefälle, in den Radien der Kugel betrachtet, offenbar ein ganz anderes, als wenn sich die Wärme wie im geronnenen Eiweifs in einem festen Körper ausbreiten mufs. Von dem Moment ab, in welchem der Eiweifsstrom durch Koagulation zur Ruhe kommt, mufs sich die Wärmeverteilung den neuen Verhältnissen anpassen. Die Zeit der Gerinnung läfst sich aber für das Innere der Kugel nachweisen. Solange Flüssigkeit zirkuliert, sind etwa alle Teile derselben von ähnlicher Temperatur; wenn in einem Momente dieser Strom

1) Das Eiweifs war absolut gleichmäfsig fest geronnen, undurchsichtig und ohne die kleinste Luftblase.

gehemmt wird, dann beginnt die starke Verlangsamung der Wärmebewegung, Vorgänge, die sich in den Erwärmungszahlen für das Eiweifs in der Tabelle ganz charakteristisch ausprägen.

Das Absinken unter die spätere wieder sich steigernde Erwärmungsgeschwindigkeit, also ein förmlicher Stillstand in der Wärmebewegung bei $T - t = 41^0$, drängt aber doch den Gedanken auf, es möchten mit der Periode des Gerinnens des Eiweifses noch besondere Wärmeprozesse verknüpft sein.

## V.

Die Depression der Wärmeströmung ist bei 60° so konstant ausgesprochen, dafs wir für diesen Punkt nochmals versuchen müssen eine Erklärung zu geben. Nachdem eine Reihe von Hilfsursachen als zweifellos nebensächlich erwiesen worden sind, wollen wir den Koagulationsvorgängen, den Änderungen der Struktur Aufmerksamkeit schenken. Ich begebe mich dabei allerdings auf ein sehr schwieriges, manchem Zweifel unterworfenes Gebiet.

Die Gerinnungsperiode scheint mit einem Verbrauch an Wärme einherzugehen.

Über die Vorgänge bei der Eiweifsgerinnung ist bisher nicht viel bekannt geworden. Man kann es wohl als eine der landläufigsten Annahmen ansehen, dafs bei der Gerinnung, d. h. dem Ausscheiden eines festen Körpers an Stelle der vorherigen Wasserlöslichkeit Wärme frei wird. Aber es wäre dies doch ein voreiliger Schlufs. Wir wollen als hierher gehörig die Frage der Quellung etwas näher betrachten.

Wir haben zu berücksichtigen, dafs alle hier in Frage kommenden gerinnungsfähigen Körper solche sind, deren Natur weniger einer Lösung als einer hochgradigen Quellung am zugänglichsten ist, und welche auch zweifellos in gequollenem Zustande in der Natur vorkommen.

Bei der Quellung und Imbibition werden bedeutende Wärmemengen frei, Eiweifs und Muskelsubstanz sind quellfähige Körper[1]),

1) S. auch Rubner, Gesetze des Energieverbrauchs, S. 28.

freilich exakt gemessen sind diese Wärmegröfsen noch nicht, aber genügende Anhaltspunkte liegen vor.

Wird die Quellung rückgängig, d. h. schrumpft der Körper wieder auf die alte Gröfse, so mufs eine äquivalente Wärmemenge für die innere Arbeit verbraucht werden. Der entsprechende Versuch wäre die Rückführung des Eiweifses vom gequollenen Zustand in den lufttrockenen.

Ist die Gerinnung aber überhaupt gleich der Rückkehr zu zu dem getrockneten Zustand? Räumlich kann es der Fall sein. Ein Eiweifsgerinnsel kann einen ebenso kleinen Raum einnehmen wie das getrocknete Eiweifs. Aber sie weisen doch wesentliche Unterschiede auf. Man nimmt an, dafs koaguliertes Eiweifs und das getrocknete optisch verschieden seien, denn ersteres ist weifs-undurchsichtig, letzteres bernsteingelb-durchscheinend. Aber diese Annahme ist gar nicht einmal richtig. Geronnenes und getrocknetes Eiweifs können optisch ganz die gleichen äufseren Erscheinungen zeigen, wie ich zuerst nachgewiesen habe.[1]) Wenn man die Koagulation von Eiweifs im Dampf an getrocknetem Eiweifs vornimmt, bleibt es durchsichtig wie normales Eiweifs.

Geronnenes und getrocknetes Eiweifs unterscheiden sich nur durch die Quellbarkeit des letzteren und die völlige Wasserunlöslichkeit des ersteren. Die Anziehungskraft für Wasser wird durch die Hitze verändert oder genommen.

Da Eiweifs im geronnenen Zustande fest zusammenhängt, so mufs das rohe Gefüge ein Maschennetz sein mit einer gewissen Starrheit der Mizellverbände und systematischen Verbindung derselben untereinander. Zu dieser Koagulation gehört, wie ich gezeigt habe, wenig Wasser, nur so viel, als aus einer noch nicht einmal mit Wasserdampf gesättigten Atmosphäre angezogen werden kann.

Die Koagulation besteht danach sehr wahrscheinlich in einem Festwerden, wobei sehr wenig Wasser fixiert zu werden braucht und in dem Ausstofsen des übrigen Wassers, was unter Umständen in sehr sichtbarer Weise geschieht. Gerinnt Eiweifs,

1) Hygien. Rundschau, Bd. IX, a. a. O.

so findet sämtliches Wasser seinen Platz in dem Maschengefüge. Verdünnt man mit Wasser, so kommt ein Punkt, von dem ab die Eiweifsverbände das Wasser nicht umspannen können und voneinander sich losreifsen und dann in Flocken umherschwimmen. Eine gewisse innere Zugkraft des gerinnenden Eiweifses kann vielleicht allgemein angenommen werden und braucht nicht, wie L. Herrmann meint, nur auf das in Fasern geordnete Eiweifs beschränkt zu sein.

Auch aus anderen Beobachtungen folgt, dafs zur Gerinnung dieselbe Wassermenge wie zur Quellung offenbar nicht notwendig ist, ein Teil des Wassers kann sogar abgestofsen werden wie der Muskel beweist und auch andere Organe zeigen. Eine namhafte Menge von Wasser tritt aus. Nehmen wir für frisches Fleisch 3,4 N bei 77% Wasser, so trifft auf 1 N 22,6 Teile Wasser; in einem gekochten Fleisch (mit 41,7% Trockensubstanz zu 15,0% N) auf 6,25 dagegen nur 58,3 Wasser oder auf 1 N 9,32, im geronnenen Fleisch also nur 44% von der Wassermenge, die zur frischen Muskelsubstanz nötig ist.

Ich fasse also die Gerinnung etwa als eine Umkehr der Quellung auf; von diesem Gesichtspunkte ausgehend müfste Gerinnung mit Wärmeverbrauch einhergehen.

Da beide Vorgänge noch wenig messend verfolgt sind, will ich versuchen, zahlenmäfsige Angaben zu erhalten.

Am genauesten ist die Quellung für das Stärkemehl untersucht; man fand, dafs, wenn 1 g sich mit Wasser benetzt, 23,6 g-Kal. frei werden, eine sehr kleine, aber immerhin doch beachtenswerte Gröfse. Viel mehr läfst sich zurzeit über diese Vorgänge kaum sagen. Messungen sind sehr schwierig, weil es sich bei den »Quellungen« meist um gar keine einfachen Prozesse handelt. Man kann mit Laminaria zwar zeigen, dafs bei der Quellung Wärme gebunden wird, aber nur, wenn die Laminaria durch Auswaschen von den Salzen befreit ist, weil sonst die negative Lösungswärme der Salze ganz die Wärmeerzeugung der Quellung deckt und aufbraucht.[1])

1) Pfeffer, Pflanzenphysiol, I, S. 26, 1881.

Experimente über die Quellung leiden alle an grofsen Mängeln, weil die Langsamkeit des Verlaufs dieses Prozesses bei der Kleinheit der Wärmemengen grofse Unsicherheiten mit sich bringt.[1])

Eine Reaktion, die Umwandlung von Eiweifs in Alkalialbuminat, ist ein Vorstadium der Lösung und offenbar eine Quellung. Das in dem Eiweifs vorhandene Wasser wird alles aufgesaugt und die Masse geradezu klebrig und widerstandsfähig.

In ein feines (unten näher angegebenes) Kalorimeter brachte ich Eiweifs (100 ccm) und daneben in einem Reagensrohr 10 ccm einer 28,57 proz. Kalilauge; in diesem Rohr wie nebenbei im Eiweifs steckte ein Thermometer (0,001° ablesbar) und aufserdem war ein Mischer vorhanden. Ich wartete den Temperaturausgleich ab, zertrümmerte das Gläschen mit Kali durch den Stofs mittels des Thermometers. Vorversuche ergaben, dafs 5 ccm Kali nicht genügend waren, alles Eiweifs in Alkalialbuminat zu verwandeln, wohl aber 10 ccm.

Aufserdem wurde die Wärme gemessen, welche je 5 und je 10 ccm Kalilauge obiger Konzentration mit Wasser verdünnt liefern.

5 ccm Kalilauge lieferten dabei 11,55 g-Kal., 10 ccm 25,30 g-Kal.

100 ccm Eiweifs + 10 ccm Kalilauge $\left.\begin{matrix} 77{,}72 \\ 75{,}40 \end{matrix}\right\}$ 76,56 g-Kal.

Der Versuch hat zu beachten, dafs die Kalilauge, auch wenn sie 1—2 proz. ist, Kohlensäure anzieht und sich stetig erwärmt!

Auf Eiweifs trifft also Wärmeentwicklung

$$\begin{array}{r} 76{,}56 \\ -\ 25{,}30 \\ \hline 51{,}26 \text{ g-Kal.} \end{array}$$

oder für 1 g Trockensubstanz = 3,93 g-Kal. Ich glaube, man wird den ganzen Vorgang als Quellung auffassen dürfen. Freilich ist im Ei schon ohnedies ein Teil des Wassers mit Eiweifs verbunden. Wieviel dies ist, weifs man leider nicht, bei Kalilaugezugabe wird nur ein Teil des Wassers anderweitig gebunden.

1) Ich habe mit Eiweifs von Hühnern niemals genügende, d. h. befriedigende Resultate erhalten.

Leider gibt es keine Methode, die Menge des freien Wassers von der des gebundenen zu unterscheiden.

Die hier entwickelte Menge von Wärme ist nicht bedeutend, müfste sich aber erhöhen, wenn man die Wärmeentwicklung für die Auflösung von 13 g Eiweifs : 100 Flüssigkeit hinzuaddierte. Gerade die ersten Anteile der Wasserbindung sind übrigens die stärkeren Wärmequellen, wie Nägeli zuerst an der Stärke bei Benetzung nachgewiesen hat. Für Gelatine finde ich eine Angabe bei E. Wiedemann und Lüdeking[1]). 1 g Gelatine, bei gewöhnlicher Temperatur quellend, entwickelt 5,7 g-Kal. Das nachherige Lösen der Gelatine in mehr Wasser bindet 3,7 g-Kal. Als 100 g lufttrockenes Hühnereiweifs in 100 Teilen Wasser quollen, erhielt ich nicht mehr als 196 g-Kal. = rund 2 g-Kal. pro 1 g Substanz. Die Quellung war aber ersichtlich keine vollkommene.

Den reziproken Vorgang der Quellung, die Eiweifsausscheidung selbst in ihrer Wärmetönung zu verfolgen, ist viel schwieriger und mir auch nur unter besonderen Verhältnissen geglückt.

Ich habe eine ganze Reihe von Versuchen angestellt, um über die Wärmebildung beim Ausfällen von Eiweifskörpern ins Klare zu kommen. Bei Experimenten über die Milchsäuregärung habe ich gefunden, dafs der Akt der Milchgerinnung anscheinend mit einer starken Wärmebildung verknüpft ist. Als die eigentliche Ursache dieses Vorgangs zeigte sich die Milchsäurebildung, während die aus dem Stoffumsatz der Bakterien herrührende Wärme nur gering ist. Die Milchsäure fällt das Kasein, die Wärmeentwicklung stammt aber nicht aus der Eiweifsfällung, sondern wie direkt darauf gerichtete Experimente mir ergaben, aus der Basenverdrängung durch die Milchsäure. Das Unlöslichwerden des Kaseins an sich kann mit einer Wärmeentwicklung nicht verbunden gewesen sein.

Noch einfachere Beweise hierfür zeigten sich bei der Labgerinnung; wenn man diese auch in grofsen Milchmengen

1) Poggendorffs Annalen, XXV, N. F., S. 147, 1885.

einleitet, kann man von einer Wärmezunahme nicht das Geringste nachweisen.

Mögen nun auch Milchgerinnung und Labfällung in ihren einzelnen inneren Vorgängen von dem Unlöslichwerden des Eiweifses in der Wärme verschieden sein, so ist doch in höchstem Mafse unwahrscheinlich, dafs prinzipielle Unterschiede vorliegen, dagegen wahrscheinlich, dafs nur quantitative Differenzen gegeben sind.

Ich habe noch die Fällung von Hühnereiweifs mit Gerbsäure untersucht, dabei war von irgendwelcher Wärmetönung nichts zu finden; entweder ist der Prozefs überhaupt ein eigenartiger oder es ist die Wärmebindung der Ausfüllung gerade durch die Bindung der Gerbsäure und dabei frei werdende Wärme gedeckt worden.

Ich habe die Wärme verglichen, welche beim Mischen von Alkohol und Wasser sowie von Alkohol und Eiweifs entsteht, zum Zwecke der Feststellung, ob mit der Ausscheidung des Eiweifses eine Wärmebindung einhergeht.

Das Ostwaldsche Mischungskalorimeter wurde einmal beschickt mit 13 g trockenem Hühnereiweifs + 100 ccm 96proz. Alkohol, und das zweite Gefäfs mit 85 ccm[1]) Wasser. In einem gegebenen Moment beide gemischt. (Vers. A.)

Der Gegenversuch bestand in der Mischung von 100 ccm Hühnereiweifs frisch (= 13,0 g trocken) und 100 ccm Alkohol. (Versuche B.)

Erhalten wurde Zuwachs mit Korrektur + 5,93° A
und . . . . . + 6,00°
= 5,96° im Mittel.
und für B ein Zuwachs von . . . . . + 5,83°
5,65°
= 5,74° im Mittel.

Die Fällung des Eiweifses gab um 0,22° weniger Erwärmung.

1) Es war aus Irrtum statt 87 ccm Wasser nur 85 ccm genommen, der Alkoholgehalt der Mischung wird statt 46,4 dann 46,6, was keine weitere Bedeutung für die Versuche hat.

Für den Wasserwert der Füllung des Kalorimeters kann man berechnen

160,8[1]) g Wasser
wozu . . 6,6 » für Eiweifs (13 · 0,56 ·)
12,4 » (Kalorimeter, Thermometer + Mischer 10,4).

179,8 g im ganzen · 0,22
= 39,5 g-Kal.

für die Koagulation von 13 g Eiweifs = 3,0 g-Kal. pro 1 g trockenes Eiweifs.

100 g Wasser, mit 80,6 g (= 100 ccm) 96 proz. Alkohol gemischt, entwickeln im Kalorimeter

7,32°
7,15°
= 7,23° Wärme.

Der Wasserwert des Gemenges[2])

174,3
+ 12,4 für Thermometer etc.
186,7

also . . . 186,7 · 7,23 = 1349,8 g-Kal.
pro 1 g Mischung . . = 7,442 g-Kal.

Für eine Mischung von Wasser und Alkohol, wobei 45% Alkohol entsteht, wird in der Literatur für 5 g Mischung die Wärmeentwicklung zu 38,81 g-Kal. angegeben. (Naumann, l. c. S. 34 f.) Hier fände ich bei 43% Alkohol für 5 g 37,3 g-Kal., demnach fast ebensoviel. Da nur eine relative Messung gemacht werden sollte, brauche ich nicht weiter auf die Sache einzugehen.

Für die Ausfällung von 1 g Eiweifs (trocken) wurden sonach 3,0 g-Kal. gebunden (wahrscheinlich ein Weniges mehr), also eine nur kleine Menge, auch im Verhältnis zu der immerhin nicht unbeträchtlichen Quellungswärme dieser Stoffe.

1) Mischung = 87 Wasser, 80,6 Alkohol (g) } Gehalt 46,4% der Mischung, spez. Wärme 0,96.

2) 100 Wasser, 80,6 Alkohol } % Gehalt des Gemisches, 43,0 spez. Wärme (siehe Naumann, Thermoch., S. 281), spez. Wärme 0,966.

Die Reaktion zwischen Alkohol und Eiweifs ist natürlich keine einfache, denn es ist nicht nur Eiweifs gefällt, sondern auch etwas an Salzen, und möglicherweise sind auch Stoffe, die halb gelöst waren, in Lösung übergetreten. Wir wissen auch nicht, ob die Alkoholfällung identisch mit der Hitzefällung ist. Nur die äufsere Erscheinung ist vielleicht die gleiche.

Das wichtigste Bedenken besteht darin, dafs man zweifellos nicht alles Wasser vom Eiweifs losreifsen kann. Nicht einmal, wenn mit der zehnfachen Menge des angewandten Eiweifses an Alkohol gefällt wird, ist man sicher, sofort ein völlig koaguliertes, wasserunlösliches Eiweifs zu erhalten. Der vorliegende Wert kann also nur ein Minimalwert sein. Ich glaube, man hat die Berechtigung die Wärmebindung bei der Gerinnung wesentlich höher zu nehmen.

Die gefundenen Werte für die Ausfällung sind klein. Wenn man sich aber vorstellt, dafs für 1 g Eiweifs 3,0 g-Kal. geliefert und bei starker Quellung, wie beim Alkalialbumin, ca. 3,9 abgegeben werden, also beim Rückgängigwerden der Reaktion wieder gebunden werden, dann kämen an $3 + 3{,}9 = 6{,}9$ Kal. pro 1 g Eiweifs als mögliche Wärmeaufnahme in Betracht, ein Wert, der immerhin periodenweise, z. B. bei bestimmter Temperatur, den Verlauf des Erwärmungsganges merkbar beeinflussen könnte.

Für den Akt der Wärmebindung bei der Gerinnung bzw. der Entquellung kann zum Verständnis noch die Verschiedenartigkeit des Widerstandes, der sich der Zusammenziehung entgegenstellt, mit in Frage kommen, auf den wir weiter unten noch eingehen.

Was die Eigenart der Erwärmung von Fleischstücken ausmacht, läfst sich jetzt leicht durch den Vergleich mit dem Eiweifs dartun.

(Siehe Tabelle IX auf S. 271)

Fleischstücke zeigen für $\frac{\lg t_1 - \lg t_2}{z}$ steigende Werte, besonders in dem letzten Zeitintervall. Die Werte nehmen schon von 70° Wärme rascher zu. Im rohen Hühnereiweifs bedingen die Flüssigkeitsströmungen einen zehnmal so grofsen Wärmestrom

wie beim Fleisch, kommen dann zur Ruhe. Der Wärmegang strebt von 70° ab ($T - t = 50$) einheitlicher Erwärmung zu. Das geronnene Eiweifs hat einige Ähnlichkeit mit dem Fleisch, jedoch sind bei letzterem die Erwärmungsverhältnisse nach einem Vorstadium des Anstrebens eines Gleichgewichtszustandes nicht gleichartig.

Tabelle IX.

Werte für $\frac{\lg t_1 - t_2}{\text{Sek.}}$.

| $T-t$ | Fleisch 4 cm ½ Seitenlänge | Eiweifs roh $4{,}4 = r$ | Eiweifs gekocht $4{,}4 = r$ |
|---|---|---|---|
| 70 | 0,00018 | 0,00173 | 0,00022 |
| 60 | 0,00016 | 0,00123 | 0,00025 |
| 50 | 0,00021 | 0,00099 | 0,00030 |
| 40 | 0,00021 | 0,00010 | 0,00029 |
| 30 | 0,00028 | 0,00023 | 0,00036 |
| 20 | 0,00026 | 0,00027 | 0,00036 |
| 10 | 0,00083 | 0,00028 | 0,00028 |
| 0 | — | — | — |

Wenn ein Grund für das Ansteigen der Erwärmungswerte frischer Fleischstücke in der allmählichen Änderung des Volums liegt, so läfst sich dieses auch im Experiment zur Anschauung bringen.

Ich stellte Fleischbrei her und mengte dazu etwa 10 ccm Hühnereiweifs, füllte die sonst benutzte Messingkugel und evakuierte mehrmals, um dichten Schlufs der Fleischmasse zu erhalten. Das Eiweifs hat die Aufgabe, sich mit dem Fleischsaft zu mischen und gemeinsam zu koagulieren. Es konnte dann keine Trennung zwischen Fleisch und Fleischextrakt, wie es sonst unvermeidlich ist, eintreten. Der Erfolg war ganz tadellos. Nach dem Erhitzen stellt die Fleischmasse, zerteilt, ein trockenes, pulveriges Material dar. Einmal wurde das Fleisch frisch erwärmt, dann ohne etwas zu ändern, abkühlen gelassen und ein zweites Mal erhitzt.

Tabelle X.

Werte für $\frac{\lg t_1 - t_2}{z}$.

| | Fleisch frisch 4 cm $^1/_2$ Seitenlänge Würfelform | Gehacktes Fleisch in der Kugel von 4,4 cm $r$ | Das vorige Fleisch nochmals erhitzt | Gewichtsverlust nach Ferrati |
|---|---|---|---|---|
| 71 | 0,00018 | 0,00012 | 0,00016 | |
| 66 | — | 0,00020 | 0,00023 | 3,6 % |
| 65 | 0,00016 | 0,00023 | 0,00029 | |
| 56 | — | 0,00026 | 0,00031 | |
| 51 | 0,00021 | 0,00026 | 0,00032 | 7,21 » |
| 46 | — | 0,00029 | 0,00034 | |
| 41 | 0,00021 | 0,00029 | 0,00036 | 15,8 » |
| 36 | — | 0,00029 | 0,00038 | |
| 31 | 0,00028 | 0,00034 | 0,00039 | 10,6 » |
| 26 | — | 0,00038 | 0,00035 | |
| 21 | 0,00026 | 0,00038 | 0,00039 | 8,3 » |
| 16 | — | 0,00038 | 0,00039 | |
| 11 | 0,00083 | 0,00040 | 0,00036 | 1,7 » |
| 6 | — | — | — | |

Das Fleisch, dessen Umfang sich nicht ändert, verhält sich also ganz anders als ein freies Stück. Die Erwärmungsgeschwindigkeit des Fleisches bei konstantem Volum strebt schnell höheren, aber bald gleichbleibenden Werten zu. Anfänglich etwa von 50—70° stehen diese Gröfsen nicht unwesentlich unter jenen von 70—90°. Das Absinken der Temperatur wie bei dem flüssigen Eiweifs bei 60° fehlt überhaupt.

Das Fleisch in Stücken zeigt einen viel unregelmäfsigeren Gang der Erwärmung, indem es mehr sprungweise in seiner Temperatur vorgeht und gerade dort innerhalb jener Temperaturgrade, wo das in der Metallkugel bei gleicher Oberfläche gehaltene Fleisch einen stationären Zustand schon genommen hat.

Die zweitmalige Erwärmung läfst den Wärmegang rascher werden, bei 50° werden bei der Erwärmungsgeschwindigkeit schon die Endwerte erreicht. In der Periode 50—70° stehen sie höher als die entsprechenden Zahlenwerte bei dem rohen Fleisch. Da hierbei weder die spezifische Wärme eine

Rolle spielen kann, wenn Masse und Umfang des zu erwärmenden Objekts dieselben sind, und das Leitungsvermögen sogar in dem Sinne einer besseren Leitung im rohen Fleisch zu bewerten ist, auch Strömungen keine Rolle spielen, so bleibt nur die Annahme von Zustandsänderungen, bei welchen Wärme verbraucht wird.

Wir kommen also zu dem Schlufs, dafs die Hauptursache des irregulären Ganges der Fleischerwärmung in der Kontraktion der Zellen zu suchen ist, die in zweierlei Weise von Wichtigkeit ist. Einmal als rückläufiger Akt der Quellung, zweitens gewissermafsen durch die Organisation als Fleisch oder Eiweifsfaser verstärkt, als ein Akt des Auspressens grofser Flüssigkeitsmassen.

Wie wir schon mehrfach gezeigt haben, ist diese Kontraktion ein Vorgang von besonderer Merkwürdigkeit. Man hat die allergröfsten Schwierigkeiten, aus dem frischen Fleisch Saft auszupressen, nur unter sehr hohem Druck gelingt dies.

Was hier nur schwere Arbeit zu leisten vermag, macht die Erwärmung in einfachster Weise. Es ist aber unabweislich, dafs die für dieses Auspressen des Saftes entnommene Kraft keine andere Quelle als die einströmende Wärme haben kann, wodurch ein zeitweises Absinken und Mindern des Wärmestroms sich ausbilden mufs.

Da dieses Moment der Kontraktion eine sehr wechselnde Gröfse, durch die wechselnde Art des Widerstandes, der in einzelnen Stücken verschieden sein kann, darstellt, ergibt sich aus ihm ein an sich und im voraus unabschätzbarer Einflufs.

Die Kontraktion und das Auspressen von Wasser kann übrigens auch in Fällen geschehen, wo man solches nach aufsen hin nicht bemerkt, also z. B. bei dem gehackten Fleisch, wie es in der Messingkugel eingeschlossen war, nur dafs eben die Gesamtpressung nicht die hohen Werte wie in einem ganzen Fleischstück erreichen kann. Aber auch bei dem Eiereiweifs tritt der gleiche Vorgang in Tätigkeit, denn hier schiebt das sich kontrahierende Eiweifs das Wasser in die

Maschenräume. Die Kontraktionsfähigkeit des Eiweifses sieht man erst in der bei Verdünnung eintretenden Flockenbildung zutage treten.

Ein ähnliches, sich in kontrahierenden Strängen ausscheidendes Eiweifs stellt das Kasein dar; wenn man Milch im zugeschmolzenen Rohre auf Temperaturen über 100° erwärmt, so scheidet sich Kasein fest als ein sich mehr und mehr zusammenziehendes Gerinnsel ab.

Bei zweitmaliger Erwärmung kann diese gleiche Ursache der Kontraktion bei Eiweifsstoffen und dem Fleisch nochmals mitspielen, denn wie ich oben angab, kann bei Wiederholung der Erwärmung eine Volumverminderung auftreten. Die Zusammenstellung in nachfolgender Tabelle erläutert dies.

Tabelle XI.

Werte von $\frac{\lg \cdot t_1 - t_2}{\text{Sek.}}$.

| $T-t$ | Roh = 11 cm Seitenlänge | Dieselben Proben nochmals erhitzt |
|---|---|---|
| 60 | 0,00016 | 0,00012 |
| 50 | 0,00015 | 0,00012 |
| 40 | 0,00014 | 0,00023 |
| 30 | 0,00046 | 0,00032 |
| 20 | 0,00050 | 0,00032 |
| 10 | 0,00044 | 0,00050 |
| 0 | — | — |

Die Geschwindigkeit des Erwärmens ist, so lange nur 40—50° im Innern erreicht werden, im gekochten Fleisch nicht rascher als im rohen, da aber das rohe Fleisch fast doppelt so grofsen Durchmesser hat, ist offenbar das Erwärmungsvermögen gekochten Fleisches viel kleiner als das von rohem Fleisch, wie ja auch die direkten Messungen ergeben haben.

Rohes Fleisch erwärmt sich trotz ungleicher Dicke, namentlich wenn es die Temperatur 70° im Innern einmal erreicht hat, viel schneller als gekochtes Fleisch.

Im frischen Fleisch ist das Temperaturgefälle natürlich von der Oberfläche zum Kern ein anderes als im gekochten. Im ersten

1) S. auch Nothwang, Archiv f. Hygiene, Bd. XVIII, S. 87.

sind die äufseren Schichten von Anfang an schon sehr warm; beginnt die Kontraktion, so wird der leicht bewegliche Saft des Kerns den nachdringenden Schichten weichen müssen und prefst sich auf geeigneten Spaltwegen weiter. Die Temperatur steigt mit der Kontraktion rascher als in dem bereits in der Kontraktionsfähigkeit erschöpften abgekochten Fleisch.

## VI.

Ich habe durch die vorliegenden Untersuchungen gezeigt, wie ungemein schwierig und kompliziert ein für das tägliche Leben so einfach erscheinendes Problem, wie die Durchwärmung organisierter Substanzen ist; wir haben es dabei nicht mit gleichbleibenden, sonderu mit zwar gesetzmäfsig, aber stets wechselnden, von der inneren Struktur abhängigen Eigenschaften zu tun.

Die Berechnung des Durchwärmungsaktes organisierter, namentlich eiweifsartiger Substanzen kann sich auf die Kenntnis einer auf üblichem Wege gefundenen Konstante für das Leitungsvermögen nicht stützen. Dagegen würde es möglich sein, aus dem Gang der Erwärmung der in einer Metallkugel eingeschlossenen Substanz einen mittleren Wert für $k$ abzuleiten. Dazu mufs namentlich eine gute Fixation des Thermometers und eine solches mit kleiner Kugel gewählt werden.

Es bleibt noch die Frage zu untersuchen, ob wir die bei der Durchwärmung eines halbfesten, wärmekoagulablen Körpers in Betracht zu ziehenden Bedingungen so weit kennen, dafs wir uns ein zutreffendes Bild dieses Vorgangs auf dem Wege der Rechnung bilden können. Das vorliegende Material wird nur annähernd für unsere Betrachtungen als Unterlage dienen, weil damals bei den Untersuchungen alle Nebenumstände, auf welche bei solchen Experimenten zu achten wäre, noch nicht bekannt waren. Man würde sie jetzt, wenn ein Bedürfnis sich ergebeu sollte, eine gröfsere Genauigkeit zu erzielen, leicht modifizieren können, weil die wesentlichen Gesichtspunkte klar liegen.

Wir haben gesehen, wie wechselnd die Bedingungen des Wärmedurchgauges wegen des schwaukenden Leitungsvermögens und der Kontraktion des Gewebes mit allen ihren sekundären

Konsequenzen — Verringeruug der Wegstreckeu, relativer Oberflächenvergröfserung — sind. Es würde aber praktischen Erwägungen gewifs nicht unwillkommen sein, eine Annäherung an die wahren Durchwärmungszeiten zu erhalten.

Die Seite 230 aufgestellte Formel lautet

$$t = R^2 \cdot \log\text{nat.} \frac{2(c-b)}{c-u} \frac{\varsigma \cdot C}{\pi^2 \cdot k}$$

$k$ ist uubekaunt und jedenfalls nicht ganz exakt abzuleiten. $\varsigma C$ wechselt aber innerhalb sehr bescheidener Greuzen, so dafs man hierfür einen mittleren Wert einsetzen kann. Dies als zulässig angenommen, liefse sich aus den Experimenten mit den Fleischstücken versuchen, einen mittleren Wert für $k$ zu finden, da ja $t$ in diesen Fällen direkt bestimmt ist.

$k = \mathrm{x}$ würde sein:

$$\mathrm{x} = \frac{R^2 + 2{,}3 \log. 160 \cdot 0{,}843}{\pi^2 \cdot t}$$

Die Temperatur der Umgebung war 100, die Anfangstemperatur etwa 20°.

Berechnet werden mufs zunächst $R^2$, ich nehme dafür — indem ich statt des Fleischwürfels die Kugel zugrunde lege — für den Anfangsstand $R$ = die halbe Seitenlänge ($A$) und für den Endstand die Verkürzung der Längsfasern ($B$), weil hier das Vordringen der Wärme ausschlaggebend beeinflufst wird.

Für die 4 Fälle hat man dann:

| Gröfse von $A$ | $R$ $B$ | Mittel | Sekunden für die Erreichung v. 100° |
|---|---|---|---|
| 3 | + 1,4 | 2,2 | 2652 |
| 4 | + 1,9 | 2,95 | 5700 |
| 5 | + 2,4 | 3,70 | 7540 |
| 5,5 | + 2,6 | 4,00 | 8172. |

Die Lösung der Gleichung gibt für x (= $k$)

| | |
|---|---|
| 0,000838 | 0,000813 |
| 0,000700 | 0,000879. |

Der zweite Wert bezieht sich auf nur drei Experimente, ist also unsicherer als die andern. Das Mittel aus allen ist 0,00081, eine Zahl, die höher ist als der Leitungswert für rohes Fleisch, was nicht wundernehmen kann, da ja der Wärmegang nicht von der Leitung allein, sondern der Art der Kontraktion, einer sehr variablen Gröfse, mit abhängig ist.

Somit würde die zu suchende Zeit

$$t = \frac{R^2 + 2{,}3 \cdot \lg. 2(c - b) \cdot 0{,}843}{0{,}00081 \cdot \pi^2}$$

Die Abweichungen werden von den wirklich zu messenden offenbar keine praktisch bedeutungsvollen sein, wenn man die bisherige absolute Unsicherheit aller Erkenntnis auf diesem Gebiete in Betracht zieht.

Man kann mit neuen, anzustellenden Versuchsreihen von gröfserer Zahl und namentlich wenn man auf die Untersuchung allzukleiner Stücke unter 10 cm Seitenlänge Verzicht leistet, sicherlich einen sehr weitgehenden Grad der Genauigkeit erzielen, vorausgesetzt, dafs man auch die Kontraktionsgröfsen einer direkten Messung unterzieht. Mir genügt es, den Weg gezeigt zu haben, wie man zur Lösung des Problems gelangt ist, das ja nicht nur für das eben hier behandelte Objekt, das Muskelfleisch, allein gilt.

Um darzutun, in welcher Weise sich bei den noch mehrfach etwas schwankenden Grundlagen Rechnung und Beobachtung deckt, möchte ich ein paar Fälle noch anfügen.

Als Beispiele seien die Versuche mit 11 cm und 6 cm grofsen Fleischstücken berechnet, natürlich bieten die letzteren eine erhebliche Unsicherheit. Ich leite die Werte weiter ab für 100°, 70°, 50° und erhalte für $t$:

| Gröfse 11 cm | berechnet Sek. | beobachtet Sek. | Temperatur im Innern |
|---|---|---|---|
| | 8550 | 8160 | 100° |
| | 4070 | 4254 | 70° |
| | 2250 | 2670 | 50° |
| Gröfse 6 cm | 2580 | 2652 | 100° |
| | 889 | 732 | 70° |
| | 684 | 330(?)[1] | 50° |

1) Diese Beobachtung gehorcht auch nicht dem Gesetze der Durchdringungszeit von dem Quadrate des Durchmessers. S. o. S. 247.

Die Übereinstimmung ist nicht unbefriedigend, wenn man in Erwägung zieht, dafs es sich doch um recht verwickelte Verhältnisse handelt, nur die Werte der letzten Zeile differieren erheblich, was vielleicht in der frühzeitigen stärkeren Zusammensetzung so kleiner Fleischstücke seine Erklärung findet.

Für einige Angaben über die Erwärmung von Fleischproben auf 52°, die ich der Literatur entnehme, habe ich auch nach meiner Rechnungsweise die zu erwartenden Temperaturen aufgesucht und erhalten:

| | beobachtet | berechnet |
|---|---|---|
| | Zeit in Sekunden | |
| für 4 Kilo schwere Stücke | 8220 | 8670 |
| 5 » | 11600 | 12960 |
| 7 » | 15060 | 14520 |
| 8 » | 22600 | 15290. |

Die Kerntemperaturen sind mit Thermometer gemessen worden, also mit einigen Fehlern behaftet. Die Abweichungen zwischen Rechnung und Messung sind nicht grofs, bis auf die letzte Zeile, wo es sich offenbar bei der direkten Beobachtung wohl um einen technischen Fehler gehandelt haben mufs.

In vorstehenden Untersuchungen habe ich dartun können, dafs die Erwärmung von porösen, nichtporösen, festen, halbfesten, konstant und wechselnd zusammengesetzten Objekten im einzelnen nicht schematisch zu behandeln ist, dafs wir die nötigen Voraussetzungen für ein Verständnis dieses Prozesses bislang nicht besessen haben, aber nunmehr in der Lage sind, diese auch für praktische Aufgaben wichtige Prozesse genauer zu übersehen. Nicht rein physikalische Erscheinungen, sondern physiologische Vorgänge kommen in Betracht und ändern fortwährend die Versuchsbedingungen und erschweren dadurch die experimentelle Verfolgung.

# Über den Mäusetyphusbazillus und seine Verwandten*).

Von

Dr. **Richard Trommsdorff**,
Assistenten des Institutes.

(Aus dem Hygienischen Institute der Universität München.)

In einer zuerst 1903 dem Internationalen Hygienekongrefs zu Brüssel übermittelten Veröffentlichung[1]) berichtete ich über höchst interessante Darmerkrankungen bei einer Anzahl von Leuten, die mit der Verteilung von Mäusetyphuskulturen zu tun hatten, sowie bei einzelnen Personen ihrer Umgebung. Es handelte sich klinisch um das Bild der sog. Cholera nostras: Erbrechen und heftige Durchfälle. Die Erkrankungen waren meist leichter Natur, nur einzelne mittelschwere Fälle mit einem Todesfall.

Ich erhielt damals die Stuhlgänge zweier der Erkrankten und es gelang, aus beiden Bakterien zu züchten, die nach ihrem Gesamtverhalten als völlig übereinstimmend mit Löfflerschen Mäusetyphusbazillen bezeichnet werden mufsten. Und zwar nicht nur wegen ihrer morphologischen, biologischen und typischen pathogenen Eigenschaften bei Verfütterung an Mäuse, sondern vor allem auch auf Grund von Agglutinationsversuchen. Es agglutinierten:

1. von Meerschweinchen durch Injektion mit den gezüchteten Bazillen gewonnene Sera echte Mäusetyphusbazillen;

*) Nach einem Vortrag, gehalten auf der Naturforscherversammlung zu Meran (Sektion Hygiene etc.) am 25. September 1905.

2. wurden die fraglichen Bakterien durch von Herrn Geheimrat Löffler mir gütigst überlassenen Mäusetyphusserum in denselben Verdünnungen wie der zur Herstellung dieses Serums verwandte Stamm agglutiniert.

Ferner wurde das Blutserum der Erkrankten einige Wochen nach Ablauf der Erkrankungen auf agglutinierende Eigenschaften gegenüber Mäusetyphusbazillen untersucht. Es fand sich in 60% der Fälle eine positive, zum Teil starke Reaktion, während der Ausfall der Proben bei fünf gesunden Personen — als Kontrolle — durchaus negativ war.

Unter Berücksichtigung der übrigen Umstände konnte damals aus den Untersuchungsergebnissen ein Schlufs auf unbedingte Pathogenität des Mäusetyphusbazillus für den Menschen nicht gezogen werden. Immerhin aber war die Tatsache, dafs sich der Mäusetyphusbazillus im Darm des Menschen anzusiedeln und üppig zu vermehren vermochte, festgestellt, und man mufste jedenfalls für die Zukunft zur Vorsicht und Überwachung bei Verwendung von Mäusetyphusbazillen bei der Mäusevertilgung auffordern.

In der Diskussion zu dieser Mitteilung bemerkte Herr Geheimrat Löffler u. a., dafs auch ihm einige wenige Male über angebliche leichte Darmstörungen bei Personen berichtet worden sei, die mit dem Legen von Mäusetyphusbazillen zu tun gehabt hätten. Bakteriologische Untersuchungen sind jedoch in den betreffenden Fällen nicht angestellt worden.

Fast zur gleichen Zeit, einige Wochen nach dem Brüsseler Kongrefs, doch ohne Kenntnis meiner dortigen Mitteilung, berichtete dann Prof. Bonhoff[2]) aus Marburg auf der Kasseler Naturforscherversammlung von vergleichenden experimentellen Untersuchungen an dem Löfflerschen Mäusetyphusbazillus und dem Paratyphusbazillus des Typus B, die ihm die völlige Identität dieser beiden Bakterienarten bei Prüfung ihres morphologischen, biologischen und tierpathogenen Verhaltens, sowie bei agglutinatorischen und spezifisch bakteriolytischen Serumversuchen (Pfeifferscher Versuch) ergeben hatten. Ausschliefslich auf Grund dieser Laboratoriumsversuche hatte

Bonhoff, falls seine Versuche von anderer Seite Bestätigung finden sollten, die Bekämpfung der Feldmausplage mit Löfflerschen Bazillen behördlicherseits zu verbieten gefordert.

Kurz darauf erschien eine Arbeit Trautmanns[3]), der im Anschlufs an den bakteriologischen Befund bei einer Fleischvergiftung in Düsseldorf eine grofse Zahl von Originalstämmen früherer Fleischvergiftungsbakterien (Bacterium enteritidis und seine Verwandten) sowie die Paratyphusbazillen vergleichend untersuchte. Es gelang ihm, diese morphologisch und biologisch sonst nicht voneinander zu unterscheidenden Arten auf Grund sorgfältig ausgeführter Agglutinationsversuche zu differenzieren. Er fafst die Fleischvergiftungs- und Paratyphusbazillen unter dem gemeinsamen Namen Bacillus paratyphosus zusammen und unterscheidet dann in dieser Gruppe fünf Untergruppen, die dadurch gekennzeichnet sind, dafs die Sera jeder der Untergruppen die Bakterien der anderen Gruppen nicht so stark als die ihrer eigenen, aber doch auch mehr oder minder stark agglutinieren.

Von diesen fünf Gruppen sind die beiden ersten den zuerst von Schottmüller differenzierten beiden Paratyphusbazillen-Typen entsprechend, die dritte hat den Bacillus enteritidis Gärtner zum Vertreter, die vierte ist einer von de Nobele (siehe weiter unten) aufgestellten Gruppe gleichwertig und als fünfte wird der Bacillus morbificans bovis von Basenau abgeschieden.

Zu einem im wesentlichen mit Bonhoffs Ergebnissen übereinstimmenden Resultat gelangte dann Schottmüller[4]). Er isolierte bei drei durchaus voneinander unabhängigen Fällen von Cholera nostras Reinkulturen ein und derselben Bakterienart, die sich völlig wie das Bakt. enteritidis verhielten, auch hinsichtlich der Hitzebeständigkeit der von ihnen gebildeten Toxine, auf welche Eigenschaft der Enteritidisbazillen Gärtner besonderes Gewicht legte.

Schottmüller fand ebenso wie Bonhoff weifse Mäuse bei Fütterung empfänglich für den Bac. enteritidis wie für den Bac. paratyphi des Typus B. Ich möchte gleich hier bemerken, dafs auch meine Versuche dies bestätigen. Es liegen somit jetzt von drei Seiten Erfahrungen vor, die Kurths Angaben widersprechen.

Aufserdem fand Schottmüller eine gleichhohe Agglutinationskraft des Serums von Kranken, aus deren Stuhl bzw. Blut Paratyphusbazillen des Typus B gezüchtet waren, gegenüber den Paratyphus- wie den Enteritidisbazillen.

Seine Ansichten fafst dann Schottmüller in sehr interessanten Erörterungen dahin zusammen, dafs er annimmt, der Bac. paratyphosus alkalifaciens, welchen Namen er für die seiner Ansicht nach identischen, bis dahin als Bac. paratyphi des Typus B und Bac. enteritidis bezeichneten Bakterien vorschlägt, »rufe beim Menschen zweierlei Krankheitsbilder hervor, entweder das der akuten Gastroenteritis (Intoxikation) oder das des Typus (Infektion im engeren Sinne)«.

Bonhoff[5]) hat dann in Fortsetzung seiner früheren Versuche weitere vergleichende Untersuchungen der sog. coli-ähnlichen Bakterien unternommen. Er gelangte, im allgemeinen in Bestätigung seiner vorhin wiedergegebenen Ergebnisse, zu dem Schlufs, dafs der Mäusetyphusbazillus, der Bac. paratyphi des Typus B und auch der Bac. enteritidis weder durch biologische, Agglutinations- oder bakteriolytische Untersuchungsmethoden zu differenzieren seien.

Für eine völlige Identität der drei Arten entschlofs er sich jedoch nicht, sich auszusprechen, da sich ihm bei seinen letzten Versuchen gewisse Unterschiede der tierpathogenen Eigenschaften des Löfflerschen und des Gärtnerschen Bazillus, im Gegensatz zu seinen früheren in Kassel berichteten Versuchen, gezeigt hatten.

Falls diese Unterschiede in Zukunft als zu geringfügig für Aufstellung zweier Varietäten erscheinen sollten, gebühre seines Erachtens nach der dem Bac. paratyphi des Typus B nach dem Gesetz der Nomenklaturen zukommende Name Bac. enteritidis auch dem Löfflerschen Mäusetyphusbazillus.

Im übrigen verspricht er sich namentlich von einer Agglutinationsprüfung mit Blutserum von Kranken, bei denen Paratyphus des Typus B festgestellt ist, entscheidende Resultate über diese Identitätsfrage.

Auf Anregung und mit Unterstützung von Max Neifser ist nun weiter die besprochene Bakteriengruppe von Smidt[6]) untersucht worden. Er zog vor allem aufser den bisher genannten Bakterien noch den in seinen Kultureigenschaften mit diesen völlig übereinstimmenden Bazillus der Hogcholera, den Bac. cholerae suum oder nach Kruse Bac. suipestifer (Schweinepestbazillus) in das Bereich seiner Versuche, die ebenfalls wesentlich serodiagnostische waren.

Smidt kommt zu dem Resultat:

1. den Bac. enteritidis entschieden von dem Mäusetyphusbazillus zu trennen — eine gewisse Analogie der Ergebnisse Trautmanns, die jedoch zu denen Bonhoffs und Schottmüllers in direktem Widerspruch steht;
2. aber ergab sich Smidt eine völlige Übereinstimmung des Mäusetyphus, des Bac. paratyphi des Typus B. und des Bac. suipestifer.; nach ihm »lassen die gebräuchlichen Untersuchungsmethoden einschliefslich der Agglutinationsprüfung nur die Entscheidung zu, ob der betreffende Stamm überhaupt zu der grofsen und für die menschliche Pathologie nicht unwichtigen Gruppe der Hogcholera (Th. Smith) gehört.« — »Zu einer Namensänderung der beiden Paratyphusbazillen und des Mäusetyphusbazillus« sieht er jedoch solange keine Veranlassung vorliegen, »als nicht für die ganze Gruppe ein neuer Name geschaffen oder aber die Differenzierung der einzelnen Stämme untereinander ermöglicht wird.«

An Agglutinationsversuchen seien ferner noch diejenigen de Nobeles[7]) aus etwas älterer Zeit, sowie die von Drigalskis[8]) erwähnt.*)

*) Ferner sei hier auf eine gröfsere Zahl von Arbeiten hingewiesen, die sich speziell auf Fleischvergiftungsbakterien beziehen, über die van Ermengen in seiner Abhandlung »Über die pathogenen Bakterien der Fleischvergiftungen« im Handbuch von Kolle-Wassermann eingehend berichtet hat.

De Nobele schied eine grofse Anzahl von Fleischvergiftungsbakterien mittels hochwirksamen agglutinierenden Seris in zwei Hauptgruppen: Typus I: Bacillus enteritidis und Typus II: Bacillus Aerthryk.

v. Drigalski hat im Anschlufs an den bakteriologischen Befund einer durch Genufs von Pferdefleisch veranlafsten Vergiftung in Neunkirchen, bei einer Prüfung mit verschiedenen agglutinierenden Seris unserer Bakteriengruppe, nicht ganz eindeutige Resultate zur Differenzierung dieser erzielt. Immerhin konnte er die von ihm isolierten Stäbchen als sicher »vollständig identisch mit Gärtners Enteritidis-Bazillen und wahrscheinlich auch mit dem Stamme Aerthryk (trotz einer kulturellen Abweichung dieses in Maltoseagar), als diesen sehr nahestehend den Bazillus der Hogcholera und als dieser Bakteriengruppe verwandt den Typhoid-Bazillus (i. e. Paratyphusbazillus des Typus B) erweisen.

Obwohl die beiden zuletzt genannten Autoren zum grofsen Teil dieselben Bakterienstämme benutzten, weichen die Ergebnisse ihrer Untersuchungen, wie bereits v. Drigalski hervorhebt, erheblich voneinander ab. So erklärt v. Drigalski den Bac. enteritidis Gärtner und den Bac. breslaviensis (Kaensche) auf Grund seiner Agglutinationsversuche für »vollständig identisch.« De Nobele stellt dagegen auf Grund ebensolcher Versuche gerade diese beiden Bakterien als Vertreter zweier zu differenzierenden Gruppen auf. Auch nach Trautmann waren gerade diese beiden Bakterien agglutinativ entschieden zu trennen.

Überblicken wir die Resultate der verschiedenen Autoren, die sich bemühten, durch ihre Untersuchungen, speziell mittels Agglutinationsmethoden, Klarheit in die Gruppe des Mäusetyphusbazillus und seiner Verwandten zu bringen, so sehen wir, dafs wir leider nicht in der Lage sind, diese Resultate auch nur einigermafsen befriedigend zu vereinigen. Im Gegenteil: namhafte Autoren, an deren exaktem Arbeiten und einwandfreiem

Beobachteu jedenfalls nicht zu zweifeln ist, sind zu teilweise völlig widersprechenden Ergebnissen gekommen.

Es hat nun die Mehrzahl der genannten Forscher meist nur mit einem oder wenigstens nur wenigen Stämmen der einzelneu verschiedenen Bakterienspezies gearbeitet: es waren trotzdem meist höchst umfangreiche Arbeiten.

Ich glaubte daher, wenn ich meinerseits an die Frage der Identität oder Nichtidentität der zur Diskussion stehenden Bakterien herantreten wollte, ich nur durch vergleichende agglutinatorische Untersuchungen möglichst vieler verschiedener Stämme derselben Arten vielleicht das erstrebte Ziel erreichen könnte.

So versuchte ich mir von folgenden Bakterien: Mäusetyphus, Enteritidis, Paratyphus B und Suipestifer eine gröfsere Auzahl verschiedener Stämme zu verschaffen und bin in dieser Beziehung den Herren Proff. Bonhoff, Dieudonné, Gärtner, Kitt und Max Neisser, die mir sämtlich auf mein Ersuchen eine oder mehrere Arten zur Verfügung stellten, zu grofsem Danke verpflichtet.

Aufserdem hatte ich eine Zahl Stämme der genannten Bakterien aus der Sammlung des Hygienischen Institutes zu München znr Verfügung, ferner die beiden von mir seinerzeit aus menschlichen Stuhlgängen gezüchteten Mäusetyphusbazillen (Pf. I und Pf. II), einige von Kràl bezogene Arten und eineu Mäusetyphusstamm der Firma Schwarzlose iu Berlin, die bekanntermafseu Mäusetyphuskulturen unter Aufsicht des Herrn Geheimrats Löffler verbreitet. Dazu kommt der Fleischvergifter Aerthryk und eine Psittacosis-Kultur aus dem Besitz des Herrn Prof. M. Neisser.

Sämtliche Bakterien zeigten in ihren morphologischen und biologischen Eigenschaften keine wesentlichen Unterschiede: coliähnliche, gram-negative Stäbchen mit mehr oder weniger lebhafter Eigenbewegung; Wachstum auf Gelatine, meist typhusähnlich zart, in einzelnen Fällen dicker, mehr coliartig: ähnliches Verhalten auf Kartoffeln; Bouillon stark getrübt und Häutchenbildung im Verlauf einiger Tage; keine

Indolbildung; Zersetzung des Traubenzuckers, aber nicht des Milchzuckers: daher keine Gerinnung der Milch — aber allmähliche Aufhellung durch Alkalibildung — und Bildung blauer Kolonien auf Conradi-Drigalski-Agar und farbloses Wachstum auf Agar nach Endo. Fluoreszenz von Neutralrot, endlich in Lackmusmolke (reichliche Einsaat!) anfangs meist geringe Säuerung, doch bald oder später auftretende geringe Alkalibildung.

Ich möchte hier darauf hinweisen, dafs, wie von den übrigen Autoren, auch meinerseits zunächst versucht wurde, in den morphologischen oder biologischen Eigenschaften der Bakterienarten durchgreifende Unterschiede zu finden. Das Ergebnis war aber negativ, nnd ich will daher auch die geringen, jedenfalls nicht bedeutungsvollen Differenzen der verschiedenen Arten hier nicht weiter erwähnen.

Ich habe nun meine Versuche damit begonnen, durch Injektion abgetöteter Agarkulturen agglutinierende Sera zu gewinnen. Dazu verwandte ich zum gröfsten Teile Meerschweinchen, aber auch einzelne Kaninchen. (Es ist dies in der Tabelle extra angegeben.) Zu erwähnen ist ein auffallend grofser Tierverlust trotz vorsichtigster Immunisierung; Beginn der Immunisierung mit teilweise sehr kleinen Dosen ($^1/_{10}$ Öse usw.). Das Ausgangsmaterial der ersten Agarkulturen waren stets isolierte Kolonien auf Gelatineplatten, so dafs ich mich des Materials von Reinkulturen versicherte (auch die biologischen Prüfungen waren von solchem Ausgangsmaterial aus vorgenommen). Die Abtötung erfolgte nach Aufschwemmung in Bouillon durch Erhitzung auf 56 bis 60° während ca. 1 bis 2 Stunden. Die Agglutinationsprüfung geschah nach der Pröscherschen Blockschälchen-Methode (2 Stunden bei 37°, makroskopisch), wobei in der Tabelle die $\pm$ (Grenz)-Werte eingeklammert sind. Die anderen Zahlen bedeuten die noch stark positiven Werte. Die zur Agglutination benutzten Bakterien waren ebenfalls genau nach Pröscher gleichmäfsig in gröfseren Mengen hergestellte, durch Formalin abgetötete Kulturen, die im Eisschrank aufgehoben wurden. In

dieser Beziehung war also das Beobachtungsmaterial gleichmäfsig. Vielfach sind die Proben doppelt oder mit einer neuen Bouillonkultur angestellt. Differenzen der einmal erhaltenen Werte wurden dabei nicht beobachtet. Jedes Serum wurde bis zur Verdünnung von 40000 austitriert. (Regelmäfsige Kontrollen: Bakterien + Na Cl-Lösung). Dafs die Tabelle einige Lücken aufweist, lag in äufseren Umständen. Es fehlte die Zeit, die Agglutinationsprüfungen vollkommen durchzuführen.

Die Ergebnisse meiner Versuche sind in der Tabelle S. 288 und 289 zusammengestellt.

In der Tabelle finden sich zunächst die Agglutinationswerte für unsere Bakteriengruppe. Die Rubriken: Paratyphus A, Typhus, Coli, Fäcalis alkaligenes können gewissermafsen als Kontrolle aufgefafst werden: hier sind nur ganz vereinzelte höhere Agglutinationswerte zu verzeichnen gewesen (Typhusserum gegenüber Paratyphus B, Mäusetyphus Kitt Kan. A-Serum gegenüber Paratyphus A, Enteritidis-Bonhoff-Serum gegenüber Typhus). Bei einer Anzahl von Normalseris, die gegenüber sämtlichen Bakterien geprüft wurden, waren nur ganz vereinzelte Agglutinationen bis 1 : 20 zu beobachten; diese Werte sind nicht mehr der Tabelle eingefügt worden.

Als sehr merkwürdig wurden die Werte der letzten Rubrik notiert. Der mit »X« bezeichnete Bazillus fand sich in der Sammlung des hygienischen Institutes zu München unter der Bezeichnung »Enteritidis«. Die morphologische und biologische Prüfung ergab aber keine Spur einer solchen. Er verhielt sich in allem wie Typhus: nur das Gelatinewachstum weicht ziemlich stark ab, auch wird er durch Typhusserum beeinflufst, während sein Serum Typhusbazillen nicht agglutiniert. Höchst auffallend sind aber die Agglutinationswerte bei Mäusetyphus-, Schweinepest- und Paratyphus. B.-Serum und umgekehrt die Wirkung des »X«-Serums auf diese Bakterien wie die Enteritidis-Stämme.

| Bazillen | Sera: Mäusetyphus Pf. I Kaninchen A | Pf. I Kaninchen B | Pf. I Meerschweinchen a | Pf. I Meerschweinchen b | Pf. I Meerschweinchen c | Pf. II | Kitt Kaninchen A | Kitt Kaninchen B | Kitt Meerschweinchen a | Kitt Meerschweinchen b | Kitt Meerschweinchen c | B b |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Mäusetyphus** Pf. I | 40 000 | 2 500 | 40 000 | 40 000 | 40 000 | | 40 000 | 40 000 | 40 000 | 40 000 | | 4 |
| Pf. II | 40 000 | 2 500 | 40 000 | 40 000 | | 10 000 (20 000) | 40 000 | 40 000 | 40 000 | 40 000 | | 4 |
| Kitt | 40 000 | 2 500 | 5 000 (10 000) | 20 000 | | | 40 000 | 40 000 | 40 000 | 40 000 | 2 500 | 4 |
| Bonhoff | 40 000 | 2 500 | 5 000 (10 000) | 20 000 (40 000) | | | 40 000 | 40 000 | 40 000 | 40 000 | | 2 4 |
| Kral | 40 000 | 2 500 | 5 000 (10 000) | 40 000 | | | 40 000 | 40 000 | 40 000 | 40 000 | | 2 4 |
| Schwarzlose | 2 500 (20 000) | 2 500 | 2 500 (5 000) | 10 000 | | | 40 000 | 40 000 | 40 000 | 40 000 | | 4 |
| **Enteritidis** Gärtner G | (40 000) | 0 | 0 | 0 | 40 | 0 | 0 | 0 | | | 0 | |
| E. | 40 000 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 160 | 0 | | | 0 | |
| D. | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 20 (40) | 0 | 0 | | | 0 | |
| Bonhoff | 40 000 | 0 | 0 | 0 | | 0 | 0 | 0 | | | 0 | |
| Kral | 0 | 0 | 0 | 0 | | 0 | 0 | 0 | | | 0 | |
| **Bac. Aerthryk** | 1 280 (2 500) | | | | 40 000 | | 40 000 | 40 000 | | | 2 500 | 4 |
| **Suipestifer** Kral | 40 000 | 2 500 | | | 20 000 | | 40 000 | 40 000 | | | 2 500 | 4 |
| Dieudonné | 80 | 320 | 80 | 80 (160) | 40 | | 1 280 | 320 | | | 640 | 4 |
| Nelfser | 20 000 (40 000) | 2 500 | | | 10 000 | | 40 000 | 40 000 | | | | 4 |
| Smith [1] | 40 000 | 2 500 | | | | | 40 000 | 40 000 | | | | 1 |
| Schubert [1] | 40 000 | 2 500 | | | | | 40 000 | 40 000 | | | | 4 |
| Ostertag [1] | 2 500 (5 000) | | | | | | 40 000 | 40 000 | | | | 4 |
| **Paratyphus B.** Schottmüller | 160 | 2 500 | 2 500 | 1 280 2 500 | 20 000 40 000 | 1 280 2 500 | 1 280 2 500 | 2 500 (5 000) | 20 000 | 20 000 | 2 500 | |
| Saarbrücken | 160 | 1 280 (2 500) | 0 | 0 | 0 | 0 | 40 000 | 0 | 80 | 160 | 20 | 2 |
| Nelfser | 40 000 | 2 500 | 10 000 (40 000) | 20 000 | 40 000 | 1 280 (2 500) | 40 000 | 40 000 | | | 2 500 | 4 |
| **Psittaensis** | 40 000 | 2 500 | | | 2 500 | | 10 000 (20 000) | 40 000 | | | | 4 |
| **Paratyphus A.** (Brion-Kayser) | 40 | | | | | 20 | 10 000 (20 000) | 0 | 0 | 0 | | |
| **Typhus** | (640) | | | | | | 160 | | | | | |
| **Coli** | 0 | | | | | | | | | | | |
| **Faecalis alkaligenes** | 0 | | | | | | 0 | | | | | |
| X | 40 000 | 0 | 5 000 10 000 | 10 000 (20 000) | 5 000 | 1 280 (2 500) | 20 000 | 0 | 10 000 | 20 000 | 2 500 | 4 10 |

[1]) Ebenfalls aus dem Besitz von Prof. Nelfser.

**Sera**

| Isotyphus | | Enteritidis | | | | | Sulpestifer | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Gärtner | | | | | | | | | | | | |
| ral | Schwarz-lose | G | E | D | Bonhoff | Kral | Kral | Bien-donné | Paratyphus B. Schottmüller | Paratyphus A. Brion-Kayser | Typhus | Coli | Paecalis alkaligenes | x |
| 280 500) | 2 500 (5 000) | » | 0 | 2 500 (5 000) | 0 | 0 | 5 000 | 0 | 640 (1 280) | 0 | 320 | 80 | (20) | 2 500 |
| 280 500) | 2 500 (5 000) | 10 | 0 | 80 | 1 200 | 80 | 5 000 | 80 | 640 | 0 | 160 (320) | 0 | (20) | 5 000 (10 000) |
| 280 | 2 500 (5000) | 20 | 0 | 160 | 0 | 320 | 5 000 | 80 | 160 (320) | 0 | 160 | 40 | » | 640 (1 280) |
| 280 500) | 2 500 (5 000) | (160) | 0 | 2 500 | 160 | 320 | 5 000 | 160 | 160 | 0 | 0 | 0 | 0 | 160 (320) |
| 500 000) | 2 500 | 5 000 | 0 | 40 000 | 5 000 | » | 5 000 | 160 | 160 | 0 | 320 | 40 | » | 0 |
| 280 500) | 2 500 | 80 | 320 (640) | 1 280 (2 500) | 5 000 | 320 | 5 000 | (10) | 80 | » | » | » | 0 | 0 |
| 80 | 0 | 2 500 (5 000) | 1 000 | 2 500 (5 000) | 5 000 | 5 000 | 0 | (20) | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 000 |
| 20 | 0 | 5 000 | 40 000 | 20 000 (40 000) | 5 000 | 5 000 | 0 | » | 0 | » | 0 | » | 0 | 2 500 |
| 20 (40 | 0 | 2 500 (5 000) | 5 000 10 000 | 20 000 (40 000 | 5 000 | 5 000 | 0 | 20) | 0 | 0 | 0 | » | 0 | 10 000 |
| 0 | 0 | 1 280 (5 000) | 20 000 | 5 000 (10 000) | 2 500 (5 000) | 2 500 (5 000) | » | 0 | » | 0 | 0 | 0 | 20 | 2 500 |
| 0 | 0 | 1 280 (2 500) | 2 500 5 000 | 2 500 (10 000) | 610 (5 000) | 2 500 (5 000) | » | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 20 | 10 000 (40 000) |
| | 1 280 | 0 | 40 (80) | 0 | 5 000 | » | 2 500 | 0 | 20 | 0 | 0 | 0 | » | 0 |
| | 2 500 | » | 40 000 | 1 280 | 5 000 | 320 | 5 000 | 20 (40) | 40 000 | 0 | 320 | 80 | » | 640 |
| | 320 | 0 | 0 | 0 | 320 | 0 | 320 (640) | 2 500 | 20 | » | 0 | » | » | 0 |
| | 5 000 | 640 | 2 500 | 2 500 (5 000) | 5 000 | 320 (640) | 2 500 (5 000) | 160 320 | 640 | 0 | 80 | 20 | 0 | 1 280 |
| 500 | 5 000 | 40 (80) | 2 500 | 320 | 5 000 | 320 | 2 500 | 160 | 160 | 0 | 160 | 10 | 0 | 1 280 (2 500) |
| 280 | 5 000 | 80 (160) | 2 500 | 10 000 | 5 000 | 320 | 2 500 | 160 | 320 | » | 160 (320) | 40 | 0 | 640 1 280 |
| 000 | 2 500 | 0 | 0 | 0 | 20 | 0 | 5 000 | 40 | 320 | 0 | 0 | 40 | 0 | 640 |
| 280 500) | 640 | » | 0 | 0 | 20 | 0 | 1 280 | 0 | 40 000 | 0 | 1 280 (2 500) | 80 | 0 | 40 000 |
| | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 80 | 0 | 10 000 | 0 | 2 500 (5 000) | 40 | » | 20 000 |
| 00 | 5 000 | 0 | 2 500 | 0 | 5 000 | 0 | 5 000 | | 640 | 0 | 160 (320) | 20 | 0 | 640 (1 280) |
| 00 | 5 000 | 0 | 2 500 | 0 | 5 000 | | 320 | (160) | 320 | 0 | » | 20 | 0 | 160 |
| | 0 | | 0 | | 20 | 0 | 0 | 20 | 0 | 40 000 | 0 | 20 | 0 | 0 |
| 20 | | 20 (40) | 0 | 0 | 5 000 | 0 | 20 | 80 | 40 | 0 | 40 000 | 80 | » | 0 |
| | | | | | 0 | 0 | 0 | | 160 | 0 | (20) | 40 000 | 0 | 20 |
| | | » | » | » | | 0 | | | 0 | » | » | 0 | 10 000 | 0 |
| 20 40) | 320 (640) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 000 | 0 | 5 000 | 0 | 2 500 | 40 | 0 | 5 000 (10 000) |

Im übrigen glaube ich hier auf eine eingehende Erklärung der Tabelle verzichten zu dürfen; es seien nur einzelne Punkte hervorgehoben:

Die Mäusetyphussera agglutinieren alle Mäusetyphusstämme, nicht die Entritidisstämme, bis auf einige Ausnahmen beim Serum Kan. A Pf. I, dagegen gröfstenteils den Stamm Aerthryk. Das Gleiche gilt für Schweinepest- und Paratyphus-B-Bazillen wie für die Psittacosis.

Die Enteritidissera agglutinieren alle Enteritidisstämme; in den übrigen Bakteriengruppen sind hier nur wenige hohe Titer zu verzeichnen (am meisten gegenüber Suipestifer).

Das Suipestifer-Kràl-Serum agglutiniert die Schweinepeststämme (Ausnahme Stamm Dieudonné), die Mäusetyphus- und Paratyphus-B-Stämme (Ausnahme Stamm Saarbrücken), den Bac. Aerthryk, dagegen nur gering die Psittacosiskultur und gar nicht die Enteritidisstämme.

Das Suipestifer Dieudonné-Serum zeigt sich dagegen völlig abweichend.

Das Paratyphus-B-Serum agglutiniert nur einen Paratyphus B- und einen Suipestiferstamm hoch.

Und umgekehrt:

Mäusetyphusbazillen wurden von allen Mäusetyphusseris, einzelne Stämme von einzelnen Enteritidisserum und einem Suipestiferserum hoch agglutiniert.

Enteritidisbazillen wurden im allgemeinen nur von Enteritidisseris (einige Ausnahmen bei Mäusetyphus-Serum Pf. I Kan. A) agglutiniert,

dagegen der Bazillus Aerthryk im allgemeinen nicht von Enteritidisseris, jedoch von Mäusetyphusseris und dem Schweinepestserum Kral.

Die Suipestiferstämme (abweichend der Stamm Dieudonné) wurden sämtlich von dem Suipestifer-Kràl-Serum, von Mäusetyphusseris, z. T. von einigen Enteritidisseris, dagegen durch das Paratyphusserum nur ein Stamm hoch agglutiniert.

Die Paratyphusstämme Schottmüller und Neifser werdeu im allgemeinen durch Mäusetyphusseris agglutiniert, dagegen ebenso wie der Stamm Saarbrücken (der nur durch 2 (3) Mäusetyphussera agglutiniert wird) nicht von Enteritidisseris (zwei Ausnahmen). Auch durch Suipestifer- (Ausnahme das Dieudonnéserum) und Paratyphussera die Mehrzahl der Werte positiv.

Die Psittacosis kultur endlich wird durch alle Mäusetyphussera hoch agglutiniert, auch durch zwei Enteritidisseris, aber nur schwach vom Schweinepest- und Paratyphusserum.

Welche Schlüsse sind nun aus den hier mitgeteilten Agglutinationsversuchen unter Berücksichtigung der Resultate der bisherigen Forschungen auf diesem Gebiete zu ziehen?

Da erscheint am wichtigsten die zwar vom Standpunkt des Bakteriologen aus sehr bedauerliche, aber wohl nicht wegzuleugnende Tatsache, **dafs die Agglutinationsprüfung, wenigstens in ihrer jetzigen Methodik, behufs Differenzierung der Bakteriengruppe: Mäusetyphus, Fleischvergifter Typ. enteritidis, suipestifer Paratyphus Typ. B, Psittacosis höchst unsichere Resultate liefert.**

Dies geht einmal aus den sich zum Teil direkt widersprechenden Angaben der Literatur über Versuche mit teilweise denselben Bakterienstämmen hervor. Entscheidend sind aber, wie ich glaube, die hier vorliegenden Versuche.

In ihnen finden sich zwar in einigen Fällen unter den Agglutinationswerten der verschiedenen Sera einer Bakteriengruppe gegenüber sämtlichen Stämmen dieser Gruppe keine wesentlichen Unterschiede, z. B. bei den Mäusetyphus-Seris gegenüber den Mäusetyphusbazillen oder bei den Enteritidis-Seris gegenüber den Enteritidisbazillen. Sehr vielfach aber agglutinieren die mit einem Bakterienstamm bei verschiedeuen Tieren hergestellten Sera ein und denselben Stamm einer anderen Gruppe (a), oder ein und dasselbe Serum die verschiedenen Stämme einer anderen Gruppe verschieden hoch (b).

Beispiele:

| | | |
|---|---|---|
| a) Mäusetyphus Ser. Kitt Kan. A geg. Bac. Paratyph. Typ. B Saarbrück. | | 40 000 |
| » » » » B » » » » » » | | 0 |
| b) Mäusetyphus Ser. Pf. I Kan. A gegen Bac. Enteritidis | G. | 40 000 |
| | E. | 40 000 |
| | D. | 0 |
| | Bonhoff | 40 000 |
| | Kral | 0 |

Diese allgemeine Schlufsfolgerung der Unsicherheit der Agglutination in unserer Gruppe vorausgeschickt und betont, glaube ich trotzdem, dafs man aus den Resultaten meiner Versuche gewisse spezielle Schlüsse ziehen darf.

Wir halten die Aufstellung gewisser Gruppen von Bakterien, die sich sonst nicht differenzieren lassen, ausschliefslich auf Grund agglutinatorisch völlig differeuten Verhaltens für berechtigt, wie wir es z. B. auch kürzlich bei dem Bac. fäcalis alcaligenes getan haben.[9]) Diese Berechtigung liegt nun bei unseren Versuchen darin, dafs gewisse Agglutinationswerte, wenigstens in der überwiegenden Mehrzahl, in einem Sinne ausfielen. Man kann daher diese Werte als die Regel, die abweichenden Ergebnisse als Ausnahmeu betrachten. Eben diese Ausnahmen, die aber vorkommen uud mit Sicherheit vorkommen, sind der Grund, dafs wir die Agglutination als Differenzierungsmoment in unserer Gruppe nicht sehr hoch einschätzen können. Denn praktisch wird man kaum je in der Lage sein, mit einer grofsen Zahl Sera und einer grofseu Zahl Bakterien, wie bei den vorliegenden Untersuchungen, zu arbeiten.

Auf Grund meiner Versuche glaube ich nun, dafs wir folgendes Spezielle sagen dürfen:

I. Der Bac. enteritidis ist von den übrigen Bakterien abzutrennen.

Dafür spricht:

a) dafs keiuer der Stämme desselbeu, bis auf 3 Ausnahmen bei dem Kaninchen A des Stammes Pf. I., von Mäusetyphusserum agglutiniert wird, und umgekehrt auch im allgemeiuen — hier sind allerdings bedeutend mehr Ausnahmen — Enteritidis-Sera Mäusetyphusbazillen nicht agglutiuieren;

b) dafs sowohl Schweinepest wie Paratyphus-B-Serum denselben nicht beeinflussen;

c) wohl auch, dafs der Stamm X-Sammlung, der sonst von fast sämtlichen Seris mehr oder minder agglutiniert wird, von keinem der Enteritidis-Sera agglutiniert wird.

II. Sowohl unter den Paratyphus-B-, wie den Schweinepest-Bazillen gibt es verschiedene Gruppen.

Hierfür spricht beim Paratyphus B das abweichende Verhalten des Stammes Saarbrücken gegenüber der Mehrzahl sämtlicher Sera und unter den von mir untersuchten Schweinepeststämmen ist entschieden der Stamm Dieudonné atypisch.

Es entsteht nun noch die Frage, wodurch sind die merkwürdigen Differenzen zu erklären, die wir bei den verschiedenen Seris gegenüber denselben Bakterienstämmen bzw. beim gleichen Serum gegenüber den verschiedenen Bakterienstämmen feststellten, und auch die differenten Ergebnisse der früheren Autoren? Man wird vielleicht bei der Betrachtung meiner grofsen Tabelle denken: Sollte da nicht bei der grofsen Zahl von Tieren und Bakterien gelegentlich bei den Injektionen ein Irrtum vorgekommen sein? Ich kann aber versichern, dafs ich in dieser Beziehung das beste Gewissen habe!

Dafs wesentliche Unterschiede in den zur Agglutination verwendeten Formalinkulturen vorlagen, glaube ich, bei meinen Versuchen wenigstens, so gut wie sicher verneinen zu dürfen. So bleiben eigentlich nur Unterschiede in der Gewinnung der Sera zu betrachten.

Bonhoff hat bei seinen Versuchen mit Mäusetyphusserum eine gleich hohe Agglutination wie für den Mäusetyphusbazillus für seinen Enteritidis-Stamm erhalten. Ich kam, unter Einhaltung derselben Technik, mit denselben Stämmen zu dem entgegengesetzten Resultat. Woran kann das liegen? Der eine Unterschied, den ich hier sehen kann, ist, dafs Bonhoff ein Kaninchen zur Immunisierung benutzte, während ich ein Meerschweinchen verwendete. Doch kann wohl die Tierspezies nicht ausschlaggebend sein, da bei meinen Ver-

sucheu mit den Stämmen Mäusetyphus Pf. I und Kitt, wo jedesmal je 2 Kaninchen und je 3 Meerschweinchen zur Immunisierung benutzt wurden, sich dann doch wohl auch derartige Differenzen hätten zeigen müssen. Und auch die verschieden hohe Wertigkeit unserer Sera kanu nicht gut zur Erklärung herangezogen werden, da Bonhoff nur bis zur Verdünnung 1 : 1000 wirksames Mäusetyphus-Serum hatte, während mein Serum viel hochwertiger (40000fach) war; dieses aber den Enteritidisbazillus nicht agglutinierte. Es war vielmehr das Umgekehrte der Fall: das Bonhoffsche schwächere Serum agglutinierte beide Arten.

Es erscheint mir somit das Wahrscheinlichste, anzunehmen, dafs sich bei verschiedenen **Tierindividuen** eine verschiedene Reaktion in bezug auf die Bildung von Agglutininen findet. Weiteren Uutersuchungen wird es vorbehalten bleiben, iu diesen Punkten Aufklärung zu schaffen. Man wird vielleicht zunächst sein Augenmerk darauf richten müssen, wie das Serum der zu immuuisiereudeu Tiere vor der ersten Injektion die einzelnen verschiedenen Bakterienstämme beeinflufst. Auch den geringsten Unterschieden dürfte da schon Wert beizulegeu sein. Ferner wird man bei der Abtötung der für die Immunisierung dieneuden Kulturen auf die Höhe der Abtötungstemperatur und die genaue Zeit der Einwirkung dieser achten müssen und auf ähnliches mehr.

Wir sind auf Grund der Agglutinatiousversuche zu einer Differenzierung der Bazillen des Mäusetyphus, der Schweinepest, des Paratyphus B, der Psittacosis und des Fleischvergifters Aerthryk **nicht** gekommen. Für eine Identität dieser sämtlichen Bakterien mich auszusprechen, würde ich mich aber trotzdem nicht für berechtigt halten. Denn hier müssen wir, m. E., doch noch — neben vielleicht mehreren anderen Punkten (Toxinbildung, Hitzebeständigkeit der Toxine etc.) — auch die tierpathogenen Eigenschaften mit berücksichtigen. Es haben sich nun bei meinen wenigeu diesbezüglichen Untersuchungen Differenzen gezeigt. Ich erwähnte bereits, dafs Bonhoff gewisse Unterschiede der

Pathogenität der von ihm untersuchten Stämme fand. Meine Versuche haben einen auffallenden Unterschied des Verhaltens der Paratyphus-B-Bazillen ergeben: Bei Verfütterung an weifse Mäuse wirkten sämtliche aufgeführten Stämme von Mäusetyphus, Enteritidis, Schweinepest, Paratyphus B, der Stamm Aerthryk und die Psittacosis tödlich. Bei allen Tieren, mit Ausnahme der mit dem Paratyphus des Typus B gefütterten, war der Sektionsbefund übereinstimmend: genau das Bild, wie es seinerzeit Löffler für die Mäusetyphusbazillose angab: fast alle Organe im Zustand der Stauung, dunkelblaurot; entzündliche Erscheinungen am Darm und bakteriologisch allgemeine Septikämie.

Bei den mit den drei Paratyphus-B-Stämmen gefütterten Tieren aber war das Bild ein wesentlich anderes. Ich denke an anderer Stelle des Näheren auf diese Befunde zurückzukommen.

Sollten wir nicht auch vielleicht, bei den Schweinepestbazillen z. B., bei anderen Versuchstieren einen ähnlichen durchgreifenden Unterschied finden können? Merkwürdig ist doch der Umstand, dafs scheinbar noch niemals Erkrankungen an Schweinepest beobachtet wurden, zu Zeiten, wo gegen die Feldmäuse mit virulenten Mäusetyphusbazillen gearbeitet wurde! Bei einer Identität beider Arten, sollte man glauben, hätte dies — bei der hohen Infektiosität der Schweinepest — wenigstens gelegentlich einmal vorkommen müssen.

Aber auf der anderen Seite bin ich weit entfernt, etwa aus Unterschieden der Pathogenität oder der Intensität der Giftbildung für eine Abtrennung von Arten einzutreten. Dafs da die gröfsten Differenzen auch bei sicher identischen Stämmen, z. B. bedingt durch Züchtung auf verschiedenartigen Nährböden, vorkommen, ist nur zu bekannt. Ich möchte in der Beziehung nur auf die neuen Untersuchungen von Schattenfroh und Grafsberger[10]) über den Rauschbrandbazillus bzw. die grofsen Differenzen der Virulenz und der Intensität der Giftbildung bei den verschiedenen Arten dieses aufmerksam machen.

Smidt empfiehlt, auf Grund seiner Erfahrungen mit polyvalentem Schweinepestserum, dieses als vorzüglich geeignet zur

Erkennung, ob ein Bakterium überhaupt zur Gruppe der Hogcholera gehöre, wie er unsere Bakteriengruppe mit Th. Smith zusammenfassend nennt. Wir würden aber auch bei Verwendung von solchem m. E. nach durchaus noch keine Garantien entscheidender Resultate haben. Aufserdem geht die Anwendung solchen polyvalenten Serums bereits von der unbedingten Zusammengehörigkeit der verschiedenen in Frage stehenden Bakterien zu einer Gruppe aus.

Dieselben Einwände sprechen gegen Benutzung von Mischbakterienkulturen, wie sie zur Seradiagnostik beim Menschen für Typhus und Paratyphus vorgeschlagen sind.

Absorptionsversuche zur Bindung der Agglutinine stellten bereits Bonhoff und Smidt (l. c.) an, ohne zu eindeutigen Resultaten zu kommen. Auf die Wiedergabe meiner diesbezüglichen Versuche möchte ich vorläufig verzichten, da auch sie bisher nicht gestatten, irgendwelche sicheren Schlüsse zu ziehen.

Endlich möchte ich noch auf eine ganz neu erschienene Arbeit Bahrs[11]) hinweisen. Jensen hatte versucht, die Paratyphusbazillengruppe durch Prüfung ihrer Gärfähigkeit gegenüber verschiedenen organischen Körpern, vor allem Zuckerarten, zu differenzieren; Bahr hat den schon von Jensen ausgesprochenen Gedanken, hierzu organische Säuren zu benutzen, durchgeführt, und es scheint ihm in der Tat so eine Differenzierung gelungen zu sein. Es geht jedoch aus seiner Veröffentlichung nicht hervor, ob er bei seinen Prüfungen stets mehrere oder nur einen Stamm der verschiedenen Arten prüfte. Man wird also bis auf Nachprüfungen dieser Arbeit mit seinem Urteil zurückhalten müssen.

Ich glaube somit empfehlen zu sollen, vorläufig ruhig die verschiedenen Namen für die nicht differenzierbaren Arten beizubehalten.

Immerhin aber sei man sich bei der Verwendung sämtlicher besprochener Bakterien der möglichen Gefährlichkeit derselben auch für den Menschen bewufst.

In bezug auf die Mäusetyphusbazillen ist bereits in Preufsen, veranlafst durch den seinerzeit von mir mitgeteilten Befund von Mäusetyphusbazillen beim Menschen, ein Erlafs mit Vorsichtsmafsregeln erschienen, der auch in Abschrift z. B. den von der Firma Schwarzlose in den Handel gebrachten Mäusetyphuskulturen beigegeben wird.

Ein Verbot der Verwendung von Mäusetyphuskulturen zur Vertilgung von Feldmäusen scheint mir jedoch zunächst nicht berechtigt.

Nach Abschlufs dieser Arbeit ging mir durch Herrn Prof. Neifser der Druckbogen (Zeitschr. f. Hyg.*) einer Arbeit Böhmes zu, deren experimentelle Ergebnisse, soweit seine Versuche methodisch den hier mitgeteilten entsprechen, durchaus mit den meinigen in Einklang stehen.

## Nachtrag bei der Korrektur.

Eine Reihe von Nachprüfungen der Gärversuche Bahrs (a. a. O.) haben mich zu der Überzeugung gebracht, dafs den Ergebnissen Bahrs eine allgemeine Bedeutung zur Differenzierung unserer Bakteriengruppe **nicht** zukommt. Als Beleg sei die folgende Tabelle mitgeteilt. (Die Versuche wurden natürlich genau nach den Vorschriften Bahrs angestellt; das Wachstum der eingesäten Bakterien war stets üppig.)

| | Bahrs Versuche | | Eigene Versuche | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Zitronensäure | Traubensäure | | Zitronensäure | Traubensäure |
| Mäusetyphus | + | + | Stamm Kral | + | 0 |
| | | | » Pf. I | 0 | 0 |
| Schweinepest | + | + | » Kral | + | 0 |
| | | | » Dieudonné | 0 | + |
| | | | » Neifser | + | 0 |
| Enteritidis | + | + | » G. | + | 0 |
| | | | » Bonhoff | + | 0 |
| Paratyphus B | + | 0 | » Neifser | + | 0 |
| | | | » Schottmüller | 0 | 0 |
| | | | » Saarbrücken | 0 | 0 |
| Psittacose | 0 | + | | 0 | |

*) Nachtrag bei der Korrektur: einstweilen erschienen Bd. 52 Heft 1.

## Literatur.


1. Verhandlungen des intern. Kongr. f. Hygiene u. Demogr., Brüssel 1903, u. Münchner med. Wochenschr., 1903, Nr. 48.
2. Verhandlungen der 75. Versammlung deutscher Naturforscher usw. zu Kassel 1903.
3. Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 45, 1903, S. 139.
4. Münchner med. Wochenschr., 1904, Nr. 7 u. 8.
5. Archiv f. Hygiene, Bd. 50, 1904, S. 222.
6. Zentralbl. f. Bakt., Bd. 38, 1905, S. 24.
7. Zitiert nach van Ermengem. Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle-Wasserm ann.
8. Festschrift zum 60. Geburtstage von Robert Koch. Jena. Fischer, 1903, S. 409.
9. Münchner med. Wochenschr., 1905, S. 1667.
10. Über das Rauschbrandgift und ein antitoxisches Serum. Wien u. Leipzig. Franz Deutike, 1904, S. 110.
11. Zentralbl. f. Bakt., Bd. 39, 1905, S. 263.

# Die Tageskurve der Wasserdampfabgabe des Menschen.

Von

Prof. Dr. med. **H. Wolpert**, Oberassistenten am Institut. und Dr. med. **F. Peters**, früherem Assistenten am Institut

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin.)

Vierundzwanzigstündige Versuche über die Wasserdampfabgabe des Menschen, bisher nur spärlich ausgeführt, haben bekanntlich zur Aufstellung eines Mittels von rd. 1 kg Wasser pro die = 42 g Wasser pro Stunde, das sind 42 × 0,6 oder 25 Kalorien pro Stunde geführt. Wie aber die Wasserdampfabgabe über den Tag sich verteilt, darüber sind uns überhaupt keine Versuche bekannt geworden.

Wenn wir daher eine Tageskurve für die Wasserdampfabgabe des Menschen zu finden suchten, indem wir den 24stündigen Tag in eine gewisse Anzahl von Perioden zerlegten, so war es erfreulich, dafs wir gleichzeitig einen Beitrag zur Frage der Gröfse des Tagesmittels erhielten.

Die Versuche unternahmen wir am Pettenkoferschen Respirationsapparat, wobei die Wasserabgabe in üblicher Weise als Differenz von Zustrom und Abstrom bestimmt wurde; von hier wie dort entführte dem Hauptstrom ein Teilstrom Parallelproben nach je zwei Voitschen Kölbchen, die, mit Schwefelsäurebimsstein beschickt, vor Beginn und nach Ablauf der einzelnen Perioden gewogen und zu diesem Behufe am Schlusse jeder Periode ausgewechselt wurden. Wir teilten den Tag in sechs vierstündige Perioden. Wünschenswert wäre ja eine kürzere Versuchs-

dauer, möglichst von einzelnen Stunden, gewesen. Aber Respirationsversuche unter vier (eigentlich sechs) Stunden lassen sich ja, wie man annimmt, nach dem Pettenkoferschen Prinzip nicht mit genügender Sicherheit ausführen, und die Versuchsperson hätte immerzu Störungen in ihrer Nachtruhe, welche durchaus zweckwidrig gewesen wäreu, erleiden müssen. Denn ohne Entkleiden und Wägen der Kleidung jedesmal nach Ablauf einer Periode geht es nicht ab, wenn man genauer Wasserzahlen sicher sein will.

Der Angewöhnung an den Apparat und einer gleichmäfsigeren Berechnung halber liefsen wir dem zweiten und dritten Versuch eine 1stündige Vorperiode vorangehen, während deren der Apparat ganz wie nachher sich in Gang befand, ein Teilstrom zur Analyse jedoch noch nicht durch die Kölbchen geschickt wurde. Am letzten der drei Versuchstage untersuchten wir sieben vierstündige Perioden, welche sich unmittelbar folgten, um eine Periode mit Deckung, also die Abschlufsperiode nochmals zu gleicher Tageszeit wie die Anfangsperiode zu bekommen.

Die Versuchsdauer, während deren der Apparat ununterbrochen in Betrieb war und die Versuchsperson den Kasten nicht verliefs, betrug:

24 Stunden am ersten Versuchstag
25 « « zweiten «
29 « « dritten «

Den grofsen Unbequemlichkeiten, welche das Sichhergeben als Versuchsobjekt zu solchen übernächtigen Kastenversuchen mit sich bringt, unterzog sich der eine von uns (Dr. Peters), während der andere den experimentellen Arbeitsteil besorgte. Über verschiedene Nebenumstände, wie Ventilationsgröfse des Kastens, auch Nahrungsaufnahme u. dgl. gibt die Generaltabelle (s. S. 306) näheren Aufschlufs. Geschlafen wurde auf einer Matratze, welche die ganze Versuchszeit über sich im Kasten befand. Matratze plus Kleidung wurden alle vier Stunden gewogen und die Gewichtsänderung bei Berechnung der Wasser-

dampfabgabe der Versuchsperson in Berücksichtigung gezogen. Durch eine Öffnung im Respirationskasten konnten unbedenklich Gegenstände hinein- und herausgereicht werden, indem ein kleiner Kasten aus Blech mit doppeltem, das heifst innen und aufsen zu betätigendem Türverschlufs luftdicht angesetzt war.

In nachstehendem finden sich die Versuchsresultate nebst den Angaben über die Temperatur und den Feuchtigkeitsgehalt der Kastenluft aus der Generaltabelle zusammengefafst. Bemerkt sei, dafs die Angaben über Luftfeuchtigkeit nicht aus Ablesungen eines Hygrometers, sondern aus Messungen nach der Absorptions- und Wägemethode sich herleiten und zwar die Mittel aus den Messungen im Zu- und Abstrom bedeuten.

Zunächst stellten wir durch einen blinden Vorversuch fest, wie grofs die Übereinstimmung der Kölbchen-Gewichtszunahmen unter sich war, wenn gleiche Luftmengen durchgeleitet wurden, ohne dafs eine Person sich im Kasten aufhielt. Alle vier Leitungen, das heifst der Doppel-Teilstrom vom Zu- und Abstrom, mit je zwei Absorptionskölbchen, mufsten danu den gleichen Wasserdampfgehalt der Luft ergeben, was auch mit grofser Annäherung zutraf: Die Kölbchen der Leitung I wurden um 109 mg durch 10 l Luft schwerer, und entsprechend Leitung II um 110, Leitung III um 109, Leitung IV um 108 mg.

In einem zweiten Vorversuch, in welchem Dr. Peters an den Aufenthalt im Apparat sich gewöhnen wollte, ergabeu die Parallelproben 12,06 und 12,00 mg pro Liter Luft für deu Abstrom, dagegen 10,83 und 10,61 mg für den Zustrom. Hieraus berechnete sich als Abgabe 45 g Wasser pro Stunde des Versuchs, welcher nur drei Stunden gedauert hatte. Wir durften umsomehr bei Wahl von vierstündigen Perioden, wie in der Folge geschehen, einwandfreie Zahlen zu erhalten hoffen.

### Versuch Nr. 1.

**Mittwoch den 21. bis Donnerstag den 22. Juni 1905. Dauer des Versuchs: 6 × 4 Stunden von Mittwoch um 4 Uhr nachmittags ab.**

Wasserdampfabgabe stündlich in den 6 Perioden:

| | I (4—8) | II (8—12) | III (12—4) | IV (4—8) | V (8—12) | VI (12—4) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Bei | 22,8 | 23,6 | 23,8 | 23,2 | 23,0 | 23,2 | Grad Lufttemperat., Mittel 23,3° |
| und | 64 | 62 | 61 | 59 | 60 | 50 | % rel. Feuchtigkeit, Mittel 59% |
| $H_2O$ = | *48* | *110* | *54°* | *71* | *81* | *49* | g mit Korrektur, Mittel *69* g |
| » = | 48 | 71 | 69 | 56 | 76 | 69 | g ohne Korrektur, Mittel 65 g |

In anderer Ordnung, von 8 Uhr vormittags ab gerechnet bis wiederum 8 Uhr vormittags:

| | I (8—12) | II (12—4) | III (4—8) | IV (8—12) | V (12—4) | VI (4—8) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $H_2O$ | 81 | 49 | 48 | 110 | 54° | 71 | g mit Korrektur, Mittel 69 g |
| » = | 76 | 69 | 48 | 71 | 69 | 56 | g ohne Korrektur, Mittel 65 g |
| bei | 23,0 | 23,2 | 22,8 | 23,6 | 23,8 | 23,2 | Grad Lufttemperat., Mittel 23,3° |
| und | 60 | 50 | 64 | 62 | 61 | 59 | % rel. Feuchtigkeit, Mittel 59% |

Resultat:

Die Wasserdampfabgabe betrug: $(81 + 49 + 48 + 110 + 54 + 71) \times 4 = 1652$ g als Tageswert und $1652 : 24 = 69$ g als mittlerer Stundenwert bei 23,3° Lufttemperatur und 59% relativer Feuchtigkeit.

Aus den unkorrigierten Abgaben[1]) würde man erhalten: $(76 + 69 + 48 + 71 + 69 + 56) \times 4 = 1556$ g als Tageswert und $1556 : 24 = 65$ g als mittleren Stundenwert.

Ein Minimum bestand des Nachts (54 g/St. 12—4 Uhr, obwohl $t >$ Mittel), ein zweites Minimum vielleicht des Nachmittags (49 g/St. 12—4 Uhr); letzteres wäre merkwürdig, da in dieser Periode zwar die Lufttemperatur dem Mittel entsprach, die relative Feuchtigkeit aber ungewöhnlich niedrig war und man danach eine erhöhte Abgabe erwarten sollte. Ein Einfluss der Nahrungsaufnahme liefs sich anscheinend nicht erweisen.

1) Die »unkorrigierten Abgaben« werden stets nebenher angeführt, weil man hieraus die Gröfse der Korrektur, welche die Berücksichtigung der Änderungen des Kleidergewichts zum Zweck hat, entnehmen kann.

Digitized by Google

Auf die niedrige Abgabe in der zeitlich ersten Periode (48 g/St. 4—8 Uhr) dürfte wegen des Fehlens der Vorperiode ein besonderes Gewicht nicht zu legen sein.

**Versuch Nr. 2.**

Montag den 26. bis Dienstag den 27. Juni 1905. Dauer des Versuchs $1 + 6 \times 4$ Stunden, von Montag um 5 bzw. 6 Uhr nachmittags ab.

Wasserdampfabgabe stündlich in den 6 Perioden:

| | I (6—10) | II (10—2) | III (2—6) | IV (6—10) | V (10—2) | VI (2—6) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Bei | 23,2 | 23,0 | 22,5 | 22,6 | 23,0 | 23,1 | Grad Lufttemperatur, Mittel 22,9° |
| und | 72 | 71 | 70 | 70 | 68 | 61 | % rel. Feuchtigkeit, Mittel 69 % |
| $H_2O$ = | *84* | *55** | *78* | *80* | *66* | *39* | g mit Korrektur, Mittel *67* g |
| » = | 84 | 62 | 63 | 75 | 64 | 49 | g ohne Korrektur, Mittel 66 g |

In anderer Ordnung, von 6 Uhr vormittags ab gerechnet bis wiederum 6 Uhr vormittags:

| | I (6—10) | II (10—2) | III (2—6) | IV (6—10) | V (10—2) | VI (2—6) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $H_2O$ = | **80** | **66** | **39** | **84** | **55*** | **78** | g mit Korrektur, Mittel **67** g |
| » = | 75 | 64 | 49 | 84 | 62 | 63 | g ohne Korrektur, Mittel 66 g |
| bei | 22,6 | 23,0 | 23,1 | 23,2 | 23,0 | 22,5 | Grad Lufttemperatur, Mittel 22,9° |
| und | 70 | 68 | 61 | 72 | 71 | 70 | % rel. Feuchtigkeit, Mittel 69 % |

Resultat:

Die Wasserdampfabgabe betrug: $(80 + 66 + 39 + 84 + 55 + 78) \times 4 = 1608$ g als Tageswert und $1608 : 24 = 67$ g als mittlerer Stundenwert bei 22,9° Lufttemperatur und 69 % relativer Feuchtigkeit.

Aus den unkorrigierten Abgaben würde man finden: $(75 + 64 + 49 + 84 + 62 + 63) \times 4 = 1588$ g als Tageswert und $1588 : 24 = 66$ g als mittleren Stundenwert.

Ein Minimum bestand wiederum des Nachts (55 g/St. 10—2 Uhr), ein zweites Minimum möglicherweise des Nachmittags (39 g/St. 2—6 Uhr); die niedrige Nachmittagszahl kann durch das Abgespanntsein und Schlafen während dieser Periode (s. Generaltabelle) bedingt sein. Die Nahrungsaufnahme schien keinen Einfluss auf die Wasserdampfabgabe auszuüben.

Bei dem folgenden Versuch gelang es, in jeder Hinsicht überaus gleichmäfsige Versuchsbedingungen zu erreichen. Das Schlafen des Nachmittags wurde vermieden, und so blieb auch das Nachmittags-Minimum der Wasserdampfabgabe aus.

### Versuch Nr. 3.

Freitag den 30. Juni bis Sonnabend den 1. Juli 1905. Dauer des Versuchs: $1 + 7 \times 4$ Stunden, von Freitag nm 3 bzw. 4 Uhr nachmittags ab.

Wasserdampfabgabe stündlich in den 7 Perioden:

| | I (4—8) | II (8—12) | III (12—4) | IV (4—8) | V (8—12) | VI (12—4 | VII (4—8) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Bei | 24,5 | 25,0 | 25,0 | 24,9 | 25,2 | 25,5 | 25,7 | Grad Lufttemp., Mittel 25,1° |
| und | 63 | 63 | 65 | 67 | 69 | 67 | 68 | % rel. Feuchtigk., Mittel 66% |
| $H_2O =$ | *66* | *66* | *68* | *45** | *89* | *76* | *83* | g mit Korrektur, Mittel *70* g |
| » = | 63 | 63 | 66 | 46 | 77 | 78 | 72 | g ohne Korrektur, Mittel 66 g |

In anderer Ordnung, von 8 Uhr vormittags ab gerechnet bis wiederum 8 Uhr vormittags, wobei für die doppelt vorkommende Periode, das ist für 4—8 Uhr nachmittags, der Mittelwert eingesetzt ist:

| | I (8—12) | II (12—4) | III (4—8) | IV (8—12) | V (12—4) | VI (4—8) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $H_2O =$ | 89 | 76 | 75 | 66 | 68 | 45* | g mit Korrektur, Mittel 70 g |
| » = | 77 | 78 | 68 | 63 | 66 | 46 | g ohne Korrektur, Mittel 66 g |
| bei | 25,2 | 25,5 | 25,1 | 25,0 | 25,0 | 24,9 | Grad Lufttemperatur, Mittel 25,1° |
| nnd | 69 | 67 | 66 | 63 | 65 | 67 | % rel. Feuchtigkeit, Mittel 66% |

Resultat:

Die Wasserdampfabgabe betrug: $(80 + 76 + 75 + 66 + 68 + 45) \times 4 = 1676$ g als Tageswert nnd $1676 : 24 = 70$ g als mittlerer Stundenwert bei 25,1° Lufttemperatur und 66% relativer Feuchtigkeit[1]).

Aus den unkorrigierten Abgaben würde man bekommen: $(77 + 78 + 68 + 63 + 66 + 46) \times 4 = 1592$ g als Tageswert und $1592 : 24 = 66$ g als mittleren Stundenwert.

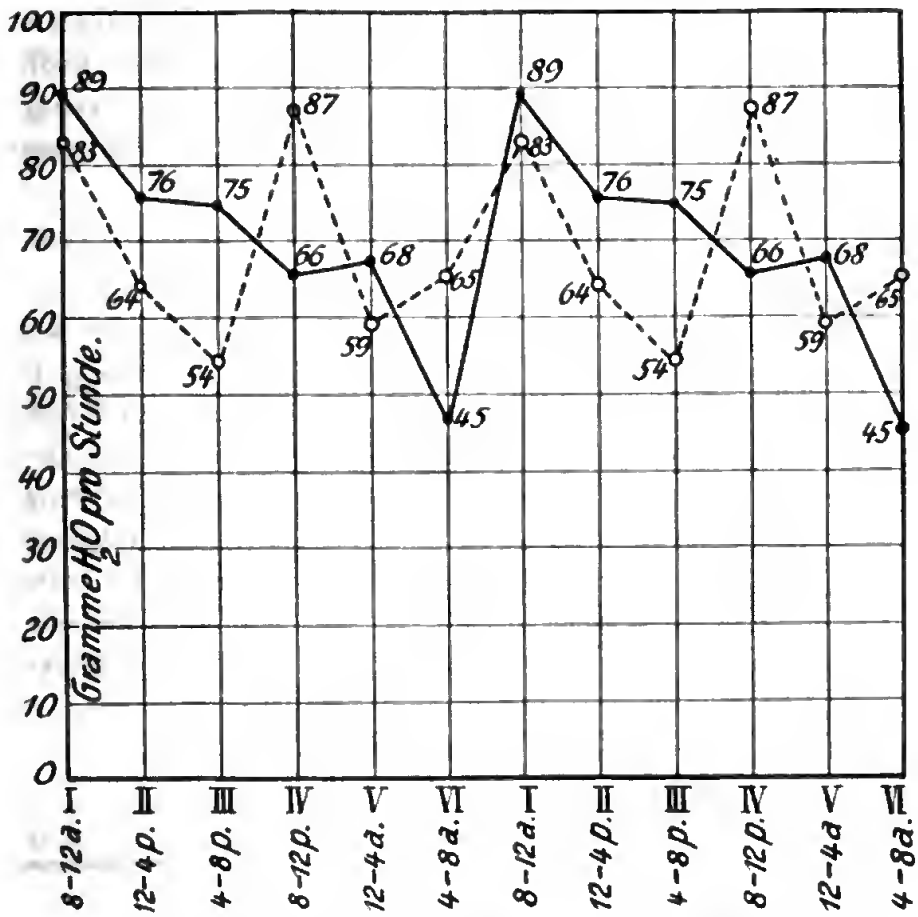
Ein Minimum besteht des Nachts (45 g/St. 4—8 Uhr); etwas Weiteres läfst sich nicht erweisen. Nach Versuch Nr. 3 hat es allerdings den Anschein, als ob die Wasserdampfabgabe gleich morgens nach dem Aufstehen am gröfsten sei und ziemlich regelmäfsig von Stunde zu Stunde bis zum Abend langsam sinke, um in der Nacht weiter stark herunterzugehen (s. Fig. auf nächster Seite, Kurve). Aber im Mittel der drei Versuche findet sich dieses Verhalten nicht bestätigt.

1) Die Lufttemperatur schwankte in den 28 Stunden nur zwischen 24,9 bis 25,5° nnd die relative Feuchtigkeit zwischen 63—69%.

Aus den drei Versuchen beträgt das Gesamtmittel = **1645** g Wasser täglich oder 1645 : 24 = **69** g Wasser stündlich[1]) bei rund 24° Lufttemperatur und 65% relativer Feuchtigkeit.

**Tageskurve.**

Versuch Nr. 3 = ———; Mittel der drei Versuche = – – –




An den einzelnen Versuchstagen wurde abgegeben:

Am 1. Versuchstag = 1652 g $H_2O$ bei 23,3° u. 59% rel. Feucht.
« 2. « = 1608 « « « 22,9° « 69 « « «
« 3. « = 1676 « « « 25,1° « 66 « « «
Im Mittel also 4936 : 3 = 1645 g « « 23,8° « 65 « « «

1) Aus den unkorrigierten Abgaben würde als Gesamtmittel hervorgehen (1556 + 1588 + 1592) : 3 = 1579 g Wasser täglich oder 1579 : 24 = 66 g Wasser stündlich.

Diese mittlere Tagesabgabe von 1645 g Wasserdampf im Hochsommer darf nicht vorbehaltslos auf das tägliche Leben übernommen werden. Die erzwungene Ruhe in dem engen Kasten wird zwar die Abgabe herunterdrücken und auch die höhere Luftfeuchtigkeit der Kastenluft wird im gleichen Sinne wirken, aber durch die andauernde Windstille wird anderseits die Abgabe gröfser[1]), als sie in der Norm, bei zeitweiligem Aufenthalt im Freien, unter hochsommerlichen Bedingungen gewöhnlich ist. Die Zahl 1645 darf wohl als unterer Mittelwert unter ähnlichen hochsommerlichen Verhältnissen gelten.

Das Gesamtergebnis der vorstehenden Versuche ist somit folgendes:

1. Die Tageskurve der Wasserdampfabgabe wird im allgemeinen nicht durch die Tageszeit als solche beeinflufst. Doch pflegt während der späteren Nachtstunden, und gegebenenfalls auch am Tage während des Schlafens die Abgabe ein Minimum aufzuweisen. Die Nahrungsaufnahme liefs keinen Einflufs auf die Abgabe erkennen.
2. Das Tagesmittel der Wasserdampfabgabe betrug in unserem Falle rund 1650 g, das Stundenmittel somit rund 70 g, bei 24° C, 65% relativer Luftfeuchtigkeit und Windstille.

## Generaltabelle.

**Versuch I. 21./22. VI. 1905.**

| Zeit | Temp. des Einstrom | Temp. des Abstrom | Ventilationsgröfse in 4 Std. | $H_2O$-Abgabe ohne Korrektur | Gewicht v. Kleidung + Matratze | Mittlere rel. Feuchtigk. in 4 Std. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| p. m. | | | | | | | |
| 4h | 22,0 | 22,6 | — | — | 12,99 | — | 3h zu Mittag gegessen. Gelesen (leichte Lektüre, wie auch in der Folge). |
| 8h | 22,2 | 24,2 | 130,0 | 191,8 : 4 = 48 | 12,99 | 64% | 830—920 Abendbrot gegessen u. Tee getrunken. Gelesen. |

1) Dieses Archiv, Bd. 33, S. 219.

Fortsetzung zu Versuch I.

| Zeit | Temp. des Einstrom | Temp. des Abstrom | Ventilationsgröße in 4 Std. | $H_2O$-Abgabe ohne Korrektur | Gewicht v. Kleidung + Matratze | Mittlere rel. Feuchtigk. in 4 Std. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 12h | 22,7 | 25,1 | 133,8 | 282,3 : 4 = 71 | 13,15 | 62% | Auf der Matratze gelegen und teils geschlafen. |
| 4h | 22,7 | 24,8 | 130,1 | 277,1 : 4 = 69 | 13,09 | 61 » | Gegen $4^{20}$ eingeschlafen. |
| 8h | 21,7 | 23,6 | 130,2 | 225,2 : 4 = 56 | 13,15 | 59 » | 7h aufgewacht, $7^{45}$ von der Matratze aufgestanden. $8^{15}$—9h Kaffee getrunken und Frühstück gegessen. Gelesen. |
| 12h | 22,2 | 24,4 | 128,8 | 302,6 : 4 = 76 | 13,165 | 60 » | $1^{30}$ zwei Brötchen gegessen. Gelesen. |
| 4h | 21,9 | 24,0 | 131,2 | 276,8 : 4 = 69 | 13,09 | 50 » | |

Versuch II. 26./27. VI. 1905.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5h | 21,8 | 23,8 | | Vorperiode | | | 2h zu Mittag gegessen. $4^{30}$ Kaffee getrunken. Gelesen. |
| 6h | 22,2 | 24,2 | — | — | 14,430 | — | |
| 10h | 21,9 | 24,6 | 130,8 | 333,5 : 4 = 84 | 14,430 | 72% | 10h—$10^{30}$ Abendbrot gegessen. 11h—$1^{45}$ geschlafen. |
| 2h | 21,7 | 23,8 | 132,1 | 249,6 : 4 = 62 | 14,400 | 71 » | $2^{15}$ hingelegt, bald eingeschlafen. $3^{15}$ aufgewacht, teils geschlafen. |
| 6h | 21,5 | 22,8 | 131,0 | 252,8 : 4 = 63 | 14,460 | 70 » | $7^{45}$—9h Kaffee getrunken und Frühstück gegessen. Gelesen. |
| 10h | 22,0 | 24,1 | 131,5 | 299,8 : 4 = 75 | 14,480 | 70 » | Gelesen. |
| 2h | 22,2 | 24,0 | 132,8 | 254,9 : 4 = 64 | 14,490 | 68 » | $2^{20}$—$5^{20}$ auf der Matratze gelegen u. bisweilen geschlafen. |
| 6h | 22,3 | 24,0 | 132,0 | 196,6 : 4 = 49 | 14,450 | 61 » | |

**Versuch III. 30 VI./1. VII. 1905.**

| Zeit | Temp des Einstrom | Temp des Abstrom | Ventilationsgröße in 4 Std | $H_2O$-Abgabe ohne Korrektur | Gewicht v Kleidung + Matratze | Mittlere rel. Feuchtigk. in 4 Std. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 3h | 23,4 | 25,0 | | Vorperiode | | | 2h zu Mittag gegessen. |
| 4h | 23,6 | 25,0 | — | — | 13,775 | — | Gelesen und geschrieben. |
| | | | | 252 : 4 = | | | |
| 8h | 23,8 | 25,6 | 131,0 | 63 | 13,795 | 63% | 8—9h Abendbrot gegessen und Tee (40°) getrunken. Gelesen. |
| | | | | 253 : 4 = | | | |
| 12h | 24,0 | 26,6 | 132,0 | 63 | 13,805 | 63 » | 12¹⁵—3h auf der Matratze gelegen, aber fast gar nicht geschlafen. |
| | | | | 264 : 4 = | | | |
| 4h | 23,9 | 25,6 | 132,0 | 66 | 13,815 | 65 » | 4¹⁰ hingelegt, sehr bald eingeschlafen. |
| | | | | 185 : 4 = | | | 7³⁰ aufgewacht. |
| 8h | 24,1 | 25,8 | 132,0 | 46 | 13,810 | 67 » | 8¹⁵—9³⁰ Kaffee getrunken und Frühstück gegessen. Gelesen. |
| | | | | 307 : 4 = | | | |
| 12h | 24,5 | 26,6 | 131,0 | 77 | 13,860 | 69 » | 1¹⁵ ein Brötchen gegessen. Gelesen. |
| | | | | 313 : 4 = | | | |
| 4h | 24,7 | 26,6 | 132,0 | 78 | 13,850 | 67 » | |
| | | | | 289 : 4 = | | | Gelesen. |
| 8h | 25,0 | 26,6 | 132,0 | 72 | 13,895 | 68 » | |

# Über die Nachwirkung körperlicher Arbeit auf die Wasserdampfabgabe beim Menschen.

Von

Prof. Dr. med. **H. Wolpert**, Oberassistenten am Institut. und Dr. med. **F. Peters**, früherem Assistenten am Institut.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin.)

Die Wasserdampfabgabe des Menschen wird bekanntlich während körperlicher Arbeit normalerweise erhöht und darf wohl insoweit als hinlänglich studiert gelten. Wie sich jedoch der Organismus nach geleisteter Arbeit verhält, ob vielleicht fürs erste kompensatorisch eine Einschränkung der Wasserabgabe unter die Norm statthat, oder ob vielleicht ganz im Gegenteil zunächst die Steigerung noch anhält — darüber ist nichts bekannt und sind nicht einmal Hypothesen laut geworden.

Das Nächstliegende wäre vielleicht, der Vermutung Raum zu geben, es möchte das für die Körpertemperatur gültige Gesetz der Kompensationen auf die Wasserdampfabgabe übertragbar sein und dies um so mehr, als letztere ja, wie die grundlegenden Versuche von Rubner und die Versuche des einen von uns (W.) über die Wasserdampfabgabe im Wind[1]) dargetan haben, ein biologischer Vorgang ist. Jedenfalls ist diese Annahme nicht von der Hand zu weisen; aber es wäre erst zu beweisen, ob sie zutrifft. Möglich ist doch auch, dafs die Steigerung der Verdampfung, einmal eingeleitet und in flottem Betrieb, auch nach

1) Dieses Archiv, Bd. 33, S. 206.

Aufhören der eigentlichen Ursache noch längere Zeit bestehen bleibt, indem die Haut in gleicher Aktivität beharrt.

Da die Frage uns theoretisch wie praktisch von einigem Interesse zu sein schien, haben wir uns deren Beantwortung durch einige Versuche am Pettenkoferschen Respirationskasten zum Ziel gesetzt.

In sämtlichen sieben Versuchsreihen hatten wir uns der dankenswerten Mitwirkung zweier sachverständiger Kollegen zu erfreuen, indem in vier langwierigen Versuchen (Nr. 1—4) Herr cand. med. Schmidt, und in weiteren drei Versuchen (Nr. 5—7) Herr Dr. Brunner sich als Versuchspersonen hergaben. Die Versuche wurden im Anschluſs an eine andere Versuchsreihe, bei welcher der eine von uns (Dr. Peters) als Versuchsperson fungierte[2]), vorgenommen. Das hier zu erwähnende Resultat jener 24stündigen Versuche war, daſs die Tageskurve der Wasserdampfabgabe nicht durch Nahrungsaufnahme beeinfluſst wird und auch nicht durch die Tageszeit als solche, daſs aber allerdings während der späteren Nachtstunden die Abgabe niedriger als am Tage zu sein pflegt. Dieser Nachweis bildete den Ausgangspunkt für die hier in Rede stehenden Versuche.

Wir besprechen zunächst das Arrangement und die Resultate der Versuche mit Herrn Schmidt und Herrn Dr. Brunner, die Tabellen folgen am Schluſs.

Die Versuche wurden nach zwei wesentlich verschiedenen Prinzipien vorgenommen, denen selbstverständlich eines gemeinsam war: Ein Vergleich der Abgaben in je einer Ruheperiode, vor Beginn und nach Ablauf einer gewissen Arbeitsleistung. Es waren also eine Vorperiode, eine Arbeitsperiode und eine Nachperiode zu trennen.

Nach Prinzip I wurde der Respirationskasten ventiliert, und der Unterschied im Wassergehalt von Zustrom und Abstrom, nebst Kenntnis der Ventilationsgröſse, ermöglichte einen Rückschluſs auf die Abgabe. Prinzip II dagegen beruhte darauf, den

1) Wolpert und Peters, Die Tageskurve der Wasserdampfabgabe. Dieses Archiv.

Kasten nicht zu ventilieren und aus der Steigerung der Luftfeuchtigkeit des abgesperrten Volums, nebst Kastengröfse, die Abgabe zu berechnen.

## I. Versuche Nr. 1—4.

**„Der Respirationskasten wird ventiliert."**

Jeder Versuch besteht aus drei 4stündigen Perioden.

Herr Schmidt ruht zunächst 4 Stunden im Kasten (Vorperiode), arbeitet dann 4 Stunden ebenda oder auch, in Versuch Nr. 4, aufserhalb des Kastens (Arbeitsperiode) — um schliefslich nochmals 4 Stunden im Kasten zu ruhen (Nachperiode).

Die Versuche wurden alle vier am Bekleideten vorgenommen.

Zwischen den einzelnen Perioden macht sich zum Zwecke der Auswechslung der Absorptionsapparate u. dgl. eine Zwischenzeit von mindestens etwa $^1/_2$—1 Stunde erforderlich. Diese Zeit verbringt Herr Schmidt aufserhalb des Apparats, jedoch im Respirationszimmer.

Im Zustrom und Abstrom wird der Wasserdampf, nebenher auch die Kohlensäure bestimmt. Der Unterschied von Zustrom und Abstrom ermöglicht einen Rückschlufs auf die Abgabe. Verglichen wird die Abgabe der Nachperiode mit jener der Vorperiode.

### Versuch Nr. 1.

Freitag den 7. Juli 1905.

a) Vorperiode, Im Kasten 11,00—3,00 Uhr mittags.
Körpertemperatur in recto 37,5° um 11 Uhr,
36,9° » 3 » .
11,15 Uhr hingelegt; 1 Kakes gegessen [1]).
11,55—12,30 Uhr geschlafen.
Matratze + Kleidung wurden 15 g leichter [2]).

1) Nach dem Ausfall unserer 24stündigen Versuche hatten wir gegen geringe Nahrungsaufnahmen, die protokolliert wurden, nichts einzuwenden.

2) Matratze + Kleidung mufsten vor und nach den einzelnen Versuchsperioden selbstverständlich gewogen und die Gewichtsänderungen bei Berechnung der Wasserdampfabgabe der Versuchsperson berücksichtigt werden.

b) Arbeitsperiode, im Kasten 3,35—7,35 Uhr nachmittags. Arbeitsleistung 32000 mkg in 4 St., also 8000 mkg/St.
Körpertemperatur 37,4° um 7,35 Uhr.
1 Kakes gegessen um 5,20 Uhr.
Matratze + Kleidung wurden 175 g schwerer.

c) Nachperiode, im Kasten 8,35—12,35 Uhr abends.
Die Arbeit ist seit 1 St. 20 Min. (seit 7,15 Uhr) beendet.
Körpertemperatur 37,1° um 8,35 Uhr,
36,5° » 12,35 » .
1 Kakes gegessen um 8,40 Uhr.
9,20—11,30 Uhr geschlafen, während dieser Zeit die elektrische Glühlampe im Kasten ausgeschaltet.
Matratze + Kleidung wurden 60 g leichter.

Resultat:

Die Wasserdampfabgabe ist in der Vorperiode mit 35,5 und Nachperiode mit 36,2 g stündlich kaum verschieden[1]). Da jedoch in der Nachperiode die relative Feuchtigkeit der Kastenluft etwa 5% höher war, bei gleichbleibender Lufttemperatur[2]), und dessenungeachtet kein Abfall sich zeigte, so dürfte dieser Umstand entschieden für eine Steigerung der Abgabe, ceteris paribus, infolge der Nachwirkung aus der Arbeit sprechen und dies um so entschiedener, als Herr Schmidt nach der Arbeit so sehr ermüdet war, daſs er in der Nachperiode über 2 Stunden schlief. Nach dem Ausfall unserer 24stündigen Versuche ist freilich nicht anzunehmen, daſs die Depression der Wasserdampfabgabe, welche durch einen Schlaf von nur etwa 2 Stunden veranlaſst wird, eine sehr erhebliche sei.

Hierbei ist zu berücksichtigen, daſs aus äuſseren Gründen[3]) die 4stündige Nachperiode erst etwa 1¼ Stunden nach geleisteter Arbeit begann, und während dieser nicht untersuchten Zwischenzeit der Hauptteil einer Nachwirkung aus der Arbeit sich geltend machen konnte. Im nächsten Versuch ist daher auf eine tunlichste Beschränkung dieser Zwischenzeit hingearbeitet worden.

Die Kohlensäureabgabe war in der Nachperiode gegen die Vorperiode etwas erhöht.

In der Arbeitsperiode, mit 8000 mkg stündlicher Leistung, waren $H_2O$ und $CO_2$, wie zu erwarten, bedeutend gesteigert,

1) Die Zahlenangaben sind den untenstehenden Tabellen entnommen.

2) Die Temperatur im Zustrom ist maſsgeblicher als jene im Abstrom, da auf letztere unter Umständen (abends) die näher beim Abstrom befindliche elektrische Glühbirne einwirkt.

3) Die Vorbereitung des neuen Versuchs erforderte so lange Zeit.

nämlich $H_2O$ von 36 auf fast 200 und $CO_2$ von etwa 28 auf 82 g stündlich, $H_2O$ also um ca. 160 und $CO_2$ um ca. 54 g. In früheren Selbstversuchen des einen von uns (W.) war, durch 15000 mkg stündliche Arbeitsleistung, die Wasserdampfabgabe im Mittel um 77 (von 42 auf 119) und die Kohlensäureabgabe um 52 (von 34 auf 86 g/St.) in die Höhe gegangen.[1])

**Versuch Nr. 2.**

Donnerstag den 13. Juli 1905.

a) Vorperiode, im Kasten 8,30—12,30 Uhr vormittags.
Körpertemperatur 37,2° um 8,30 Uhr,
36,9° » 12,30 » .
10,55—11,25 Uhr geschlafen.
Ca. 40 g Schokolade gegessen, nichts getrunken.
Matratze + Kleidung wurden 15 g schwerer.

b) Arbeiteperiode, im Kasten 1,00—5,00 Uhr nachmittags. Arbeitsleistung 16000 mkg in 4 St., also 4000 mkg/St.
Körpertemperatur 37,1° um 1,00 Uhr,
37,5° » 5,00 » .
1,25 Uhr Glas Wasser getrunken und 2 Stullen gegessen, 3,35 Uhr Glas Wasser getrunken.
Im ganzen etwa 80 g Schokolade gegessen.
Matratze + Kleidung wurden 95 g schwerer.
Um 4,45 Uhr war die Arbeit beendet.

c) Nachperiode, im Kasten 5,35—9,35 Uhr nachmittags.
Körpertemperatur 37,5° um 5,35 Uhr,
37,1° » 9,35 » .
6,35—7,40 Uhr geschlafen.
Matratze + Kleidung wurden 35 g leichter.
Die Nachperiode hatte 50 Minuten nach Beendigung der Arbeit begonnen.

Resultat:

Die Wasserdampfabgabe ist in der Nachperiode gegen die Vorperiode deutlich gesteigert, nämlich bei Gleichbleiben der Lufttemperatur und Luftfeuchtigkeit von rund 46 auf 54 g/St.; die entsprechenden Kohlensäureabgaben zeigen keine Verschiedenheit.

Wegen der geringeren (halben) Leistung waren in der Arbeitsperiode die Wasserdampf- und Kohlensäureabgabe weniger als im ersten Versuch aufgehöht, nämlich die Wasserdampfabgabe von 46 auf 90 = um 44 und die Kohlensäureabgabe von 32 auf 59 = um 27 g stündlich durch 4000 mkg Leistung.

1) Dieses Archiv, Bd. 26, S. 32.

**Versuch Nr. 3.**

Freitag den 21. Juli 1905.

a) Vorperiode, im Kasten 8,00—12,00 Uhr vormittags.
Körpertemperatur 37,5° um 8,00 Uhr,
36,8° » 12,00 » .
11,00 Uhr Glas Wasser getrunken.
11,10—12,10 Uhr geschlafen:
Im ganzen etwa 60 g Schokolade gegessen.
Matratze + Kleidung wurden 45 g schwerer.

b) Arbeitsperiode, im Kasten 12,35—4,35 Uhr nachmittags.
Arbeitsleistung 20000 mkg in 4 St., also 5000 mkg/St.
Körpertemperatur 37,3° nm 12,35 Uhr,
37,9° » 4,35 » .
2,30 Uhr Glas Wasser getrunken, 2 Stullen gegessen.
4,00 Uhr nochmals Glas Wasser getrunken.
Im ganzen ca 60 g Schokolade gegessen.
Matratze + Kleidung wurden 205 g schwerer.

c) Nachperiode, im Kasten 5.10—9,10 Uhr abends.
Körpertemperatur 37,5° um 5,10 Uhr.
5,30 Uhr zwei Schinkenstullen gegessen.
Matratze + Kleidung wurden 125 g leichter.

Resultat:

Ähnlich wie im zweiten Versuch, wenn auch in etwas geringerem Mafse, ist auch hier die Wasserdampfabgabe der Nachperiode (mit 50) gegen die Vorperiode (mit 45 g/St.) unzweifelhaft gesteigert.

Gleichzeitig läfst die Kohlensäureabgabe in der Nachperiode ein starkes Anwachsen (von 33 auf 40 g/St.) erkennen, welches aber auf Nahrungsaufnahme zurückzuführen sein dürfte. Um hierüber ins klare zu kommen, soll während eines vierten Versuchs überhaupt keine Nahrungsaufnahme erfolgen und die Arbeit aufserhalb des Kastens geleistet werden, so dafs sich die Nachperiode ohne gröfsere Zwischenzeit an die Arbeitsperiode anschliefsen kann.

Die Arbeitsperiode brachte eine Steigerung der Wasserdampfabgabe von 45 auf 172 = um 127 und der Kohlensäureabgabe von 33 auf 80 = um 47 g stündlich durch 5000 mkg Leistung.

**Versuch Nr. 4.**

Montag den 31. Juli 1905.

a) Vorperiode, im Kasten 10,30—2,30 Uhr mittags.
Herr Schmidt hat früh 8 Uhr Kaffee getrunken und ifst eine belegte Stulle um 10 Uhr. Von da ab bis 8 Uhr abends unterbleibt jegliche Nahrungsaufnahme.

b) Arbeitsperiode, aufserhalb des Kastens 2,35—3,35 Uhr.
Arbeitsleistung in dieser Stunde 28750 mkg.

Digitized by Google

c) Nachperiode, im Kasten 3,48—7,48 Uhr abends.

Die Nachperiode hatte 13 Minuten nach Beendigung der Arbeit begonnen.

Resultat:

Die Wasserdampfabgabe in der Nachperiode ist wiederum gesteigert gegen die Vorperiode, nämlich von rund 37 auf 44 g/St., und es kann daher diese Steigerung wohl als gesetzmäßige Nachwirkung der Arbeit angesprochen werden.

Die Kohlensäureabgabe war in den beiden Ruheperioden diesmal nicht verschieden, weshalb wohl der im dritten Versuch konstatierte höhere Wert der Nachperiode auf Zufälligkeiten fußt.

In den folgenden Versuchsreihen wurde von vornherein auf Erhebung der Kohlensäureabgabe verzichtet.

## II. Versuche Nr. 5—7.

### „Der Respirationskasten wird nicht ventiliert."

Jeder Versuch besteht aus drei einstündigen Perioden.

Herr Dr. Brunner ruht zunächst 1 Stunde im Kasten (Vorperiode) — arbeitet dann eine Stunde ebenda oder auch, in Versuch Nr. 6 und 7, außerhalb des Kastens (Arbeitsperiode, Leistung durchweg 14000 mkg) —, um schließlich nochmals 1 Stunde im Kasten zu ruhen (Nachperiode). Die Versuche wurden durchweg am Nackten vorgenommen[1]), die Arbeitsleistung führte daher nie zu Schweißbildung.

In der Zwischenzeit zwischen je zwei Perioden, welche auf etwa 10 Minuten bemessen wird, bleibt der Kasten nach dem Heraustreten Dr. Brunners geöffnet, um mittels eines elektrischen Ventilators energisch gelüftet zu werden, damit die Feuchtigkeit der Kastenluft tunlichst wieder auf ihren Anfangsstand sinke.

Verglichen werden die Steigerungen der Luftfeuchtigkeit des im Kasten abgesperrten Luftvolums bzw. die hieraus zu berechnenden Abgaben in der Vor- und Nachperiode.

---

1) Die Vornahme der Versuche geschah um deswillen am Nackten, um die Wägungen der Kleider vor und nach den Versuchen und die hierdurch veranlaßten, etwas unsicheren Korrekturen der Abgabe zu umgehen. In diesen Versuchen mußte geheizt werden, nicht nur der Kasten (durch elektrische Fußbodenheizung), sondern, wie sich herausstellte, am besten das ganze Zimmer.

**Versnch Nr. 5.**

Dienstag den 18. Jnli 1905.

Der Kasten wurde elektrisch, dnrch Fnfsbodenheiznng, das Zimmer im übrigen nicht geheizt. Während der ganzen Versuchszeit lief im Kasten ein elektrischer Ventilator als Lnftmischer und war so aufgestellt, dafs Herr Dr. Brnnner möglichst wenig durch Zug helästigt wurde. Die Ablesungen der Lnftfenchtigkeit geschahen an einem gut justierten Koppeschen Instrnment.

Bei gleicher Temperatur nnd Feuchtigkeit der Kastenlnft zeigt sich auch hier wieder die Ruhe nach getaner Arbeit dnrch eine höhere Wasserzahl gekennzeichnet. In der einstündigen Vorperiode wurden rnnd 35, in der einstündigen Nachperiode aber 41 g Wasserdampf abgegeben. Die Zahl 105 für die einstündige Arbeitsperiode ist unsicher (zn niedrig) wegen Kondensation.

Die Viertelstundenwerte der Abgabe waren für die drei Perioden folgende:

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Vorperiode | = 9,5 | + 9,1 | + 7,7 | + 8,4 | = 34,7 | g | Wasserdampf, |
| Nachperiode | = 13,7 | + 10,5 | + 8,4 | + 8,4 | = 41,0 | g | » |
| Arbeit | = 15,8 | + 21,0 | + 31,5 | + 36,4(?) | = 104,7(?) | g | » . |

Es hat hiernach den Anschein, als ob die Nachwirkung $^3/_4$ Stunden dauerte, aber sich hauptsächlich auf die erste Viertelstunde konzentrierte.

Da die Wasserdampfabgabe während der Arbeit nicht in Untersuchung stand, wurde in der Folge die Arbeit aufserhalb des Kastens geleistet und so jegliche Kondensation von den Kastenwandungen ferngehalten.

**Versnch Nr. 6.**

Donnerstag den 20. Jnli 1905.

Die elektrische Fnfsbodenheiznng des Kastens ist aufser Betrieb, dafür wird das ganze Zimmer geheizt (Autostat-Gasheizung) Der Ventilator ist wie beim vorigen Versuch in Tätigkeit. Die Lnftfenchtigkeit im Kasten wird anfser mittels eines Koppeschen Hygrometers noch mit Hilfe eines Afsmannschen Aspirationspsychrometers gemessen.

Die Viertelstnndenwerte der Abgahe waren für die Vor- und Nachperiode:

1. Nach Mafsgabe des Koppeschen Instrnments:
   Vorperiode = 13,3 + 18,9 + 12,6 + 15,4 = 60,2 g $H_2O$,
   Nachperiode = 29,4 + 15,4 + 11,2 + 7,7 = 63,7 g $H_2O$.
2. Nach Mafsgabe des Afsmannschen Instruments:
   Vorperiode = 17,5 + 15,4 + 11,2 + 9,1 = 53,2 g $H_2O$,
   Nachperiode = 29,4 + 11,2 + 12,6 + 9,1 = 62,3 g $H_2O$.

Also auch hier wieder ergibt sich, besonders bei Anwendung des zuverlässigeren (Aſsmannschen) Instruments, eine wesentliche Steigerung der Abgabe zugunsten der Nachperiode.

Das Plus wäre vermutlich noch bedeutender bei gleichmäſsiger gestalteten Vorbedingungen. Aber es ist natürlich, daſs das abgesperrte Luftvolum in der Nachperiode durch die vermehrte Abgabe eine vermehrte Steigerung seiner Feuchtigkeit erfuhr, welche ihrerseits wiederum retardierend auf die weitere Abgabe wirken muſste. Die Lufttemperaturen konnten in beiden Fällen ja so gut wie gleich gehalten werden (30,1° und 30,0° im Mittel), aber im zweiten Fall muſste die Luftfeuchtigkeit alsbald ansteigen und am Schluſs einen erheblich höheren Wert repräsentieren.

Die Luftfeuchtigkeit betrug nach Koppe:

Vorperiode: Anfaug 35, Eude 61, Mittel 47%,
Nachperiode: » 37, » 66, » 54%,

und nach Aſsmann:

Vorperiode: Anfang 44, Ende 67, Mittel 56%,
Nachperiode: » 44, » 72, » 60%.

Daher läſst sich auch nicht behaupten, die Nachwirkung müsse sich hier auf die erste Viertelstunde beschränkt haben, obwohl die obigen Zahlen dies nahezulegen scheinen. Denn bereits nach der ersten Viertelstunde war die relative Luftfeuchtigkeit während der Nachperiode erheblich, d. h. um 5—10% über den entsprechenden Wert der Vorperiode hinausgegangen, uud zwar eben infolge der starken Nachwirkung aus der Arbeit auf die Abgabe. Gerade hierdurch wird deutlich, daſs der Ruhende nach getaner Arbeit den Feuchtigkeitsgehalt der Zimmerluft mehr als der dauernd Untätige in die Höhe treibt.

Eine letzte Wiederholung des Versuchs führte zu keinem anderen Resultat.

**Versuch Nr. 7.**

**Donnerstag den 27. Juli 1905.**

Die Art der Heizung war die gleiche wie beim vorangegangenen Versuch. Auch wurde wiederum sowohl Koppes Hygrometer wie das Afsmannsche Instrument beobachtet. Der Ventilator war diesmal nicht beständig in Betrieb, sondern jedesmal nur etwa 10 Sekunden vor einer Ablesung. Hierdurch sollte vermieden werden, dafs Herrn Dr. Brunner des öfteren ein Luftzug belästigte. Die Steigerung der Wasserdampfabgabe wird hier nur beim ersten Viertelstundenwert deutlich (17,5 gegen 7,7 nach Afsmann und 16,1 gegen 12,6 g/St. nach Koppe), im ganzen aber verwischt, was wohl in der ungenügenden Luftmischung begründet ist.

Wie lange die Steigerung der Abgabe anhält, läfst sich aus den zuletzt mitgeteilten Versuchen schwer mit Sicherheit ermessen, weil nach dem Prinzip, welches diesen Versuchen zugrunde lag, die relative Feuchtigkeit der Kastenluft gröfser wurde und so eine Depression der Abgabe herbeiführte, die um so gröfser ausfiel und um so rascher eintrat, je gröfser die fragliche Nachwirkung war. Hiernach möchte anzunehmen sein, die Nachwirkung sei nach längstens $^3/_4$ Stunden vorüber gewesen.

In den ersten Versuchsreihen waren die Bedingungen für die Vor- und Nachperiode jedoch gleichmäfsiger gestaltbar, und da zeigte es sich, dafs die Nachwirkung auf mehrere Stunden sich erstrecken kann. Denn in jenen Versuchen begann die Nachperiode erst eine halbe bis mehr als eine ganze Stunde nach dem Abschlufs der Arbeit in einem Falle sogar erst 1 Stunde und 20 Minuten nachher, und dauerte 4 Stunden; gleichwohl aber war eine Nachwirkung der Arbeit im positiven Sinne in keinem Falle zu verkennen.

Aus den mitgeteilten Versuchen ist somit zu schliefsen:

Die Wasserdampfabgabe des Menschen, welche während körperlicher Arbeit bekanntlich gesteigert zu sein pflegt, bleibt auch nach geleisteter Arbeit noch eine Zeitlang, bis zu mehreren Stunden, erhöht.

(Folgen die Tabellen S. 319—322.)

**18. VII. 05. Dr. Brunner. Versuch I.**

| Zeit | Kasten Temp. | Kasten Rel. F. (Hygr.) | $H_2O$-Abgabe in g pro 15' | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| $10^h$ | — | 50 | — | Ruhe |
| $10^5$ | (24,3) | (51) | — | |
| $10^{15}$ | 24,9 | 53 | 9,5 | |
| $10^{30}$ | 25,5 | 57 | 9,1 | |
| $10^{45}$ | 25,7 | 61 | 7,7 | |
| $11^h$ | 26 | 65 | 8,4 | |
| $H_2O$-Abgabe für die Stunde | | | 34,7 | |

| Zeit | Kasten Temp. | Kasten Rel. F. (Hygr.) | $H_2O$-Abgabe in g pro 15' | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| $11^{10}$ | — | 48 | — | Arbeit: 14000 mkg |
| $11^{15}$ | (25) | (48) | — | |
| $11^{25}$ | 25,9 | 52 | 15,8 | |
| $11^{40}$ | 26 | 64 | 21,0 | |
| $11^{55}$ | 26,4 | 81 | 31,5 | |
| $12^{10}$ | 26,7 | 100 | 36,4 | $12^5$ Fenster beschlagen |
| $H_2O$-Abgabe für die Stunde | | | 104,7 | |

| Zeit | Kasten Temp. | Kasten Rel. F. (Hygr.) | $H_2O$-Abgabe in g pro 15' | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| $12^{20}$ | — | 46 | — | Ruhe |
| $12^{25}$ | (25,5) | (46) | — | |
| $12^{35}$ | 26 | 50 | 13,7 | |
| $12^{50}$ | 26 | 56 | 10,5 | |
| $1^5$ | 26 | 61 | 8,4 | |
| $1^{20}$ | 26,3 | 65 | 8,4 | |
| $H_2O$-Abgabe für die Stunde | | | 41,0 | |

**20. VII. Versuch II. Dr. Brunner.**

| Zeit | Thermomet. trocken | Thermomet. feucht | psychr. Diff. | Rel. Feucht. Psychrom. | Rel. Feucht. Hygrom. | $H_2O$-Abgabe in g pro 15' Psychrom. | $H_2O$-Abgabe in g pro 15' Hygrom | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $10^{15}$ | 29,2 | 20,4 | 8,8 | 44,5 | 35 | | | |
| $10^{20}$ | | | | | (37) | | | |
| $10^{25}$ | | | | | (38) | | | |
| $10^{30}$ | 30,0 | 22,3 | 7,7 | 51,2 | 40 | 17,5 | 13,3 | |
| $10^{35}$ | | | | | (42) | | | |
| $10^{40}$ | | | | | (45) | | | |
| $10^{45}$ | 30,3 | 23,7 | 6,6 | 57,6 | 48 | 15,4 | 18,9 | |
| $10^{50}$ | | | | | (50) | | | |
| $10^{55}$ | | | | | (52) | | | |
| $11^h$ | 30,6 | 24,7 | 5,9 | 61,8 | 53 | 11,2 | 12,6 | |
| $11^5$ | | | | | (56) | | | |
| $11^{10}$ | | | | | (58) | | | |
| $11^{15}$ | 30,3 | 25,3 | 5 | 66,9 | 61 | 9,1 | 15,4 | |
| $H_2O$-Abgabe für die Stunde | | | | | | 53,2 | 60,2 | |

Fortsetzung zu Versuch II.

| Zeit | Kasten: Thermomet. trocken | Kasten: Thermomet. feucht | Kasten: spychr. Diff | Kasten: Rel. Feucht. Psychrom. | Kasten: Rel. Feucht. Hygrom. | $H_2O$-Abgabe in g pro 15′: Psychrom. | $H_2O$-Abgabe in g pro 15′: Hygrom. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $12^{15}$ | 29,5 | 20,5 | 9 | 43,8 | 37 | | | |
| $12^{20}$ | | | | | (43) | | | |
| $12^{25}$ | | | | | (46) | | | |
| $12^{30}$ | 29,9 | 23,2 | 6,7 | 56,7 | 50 | 29,4 | 29,4 | |
| $12^{35}$ | | | | | (53) | | | |
| $12^{40}$ | | | | | (55) | | | |
| $12^{45}$ | 30 | 24,2 | 5,8 | 61,9 | 57 | 11,2 | 15,4 | |
| $12^{50}$ | | | | | (—) | | | |
| $12^{55}$ | | | | | (59) | | | |
| 1h | 30,7 | 25,4 | 5,3 | 65,3 | 60 | 12,6 | 11,2 | |
| $1^{5}$ | | | | | (61) | | | |
| $1^{10}$ | | | | | (64) | | | |
| $1^{15}$ | 30 | 25,9 | 4,1 | 72,2 | 66 | 9,1 | 7,7 | |
| | | | | $H_2O$-Abgabe für die Stunde | | 62,3 | 63,7 | |

27. VII. 05. Versuch III. Dr. Brunner.

| Zeit | Kasten: Thermomet. trocken | Kasten: Thermomet. feucht | Kasten: spychr Diff. | Kasten: Rel. Feucht. Psychrom. | Kasten: Rel. Feucht. Hygrom. | $H_2O$-Abgbe in g pro 15′: Psychrom. | $H_2O$-Abgbe in g pro 15′: Hygrom. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 10h | 26,7 | 21,3 | 5,4 | 61,9 | 48 | | | |
| $10^{5}$ | | | | | (50) | | | |
| $10^{10}$ | | | | | (51) | | | |
| $10^{15}$ | 27,4 | 22,2 | 5,2 | 63,7 | 53 | 7,7 | 12,6 | |
| $10^{20}$ | | | | | (55) | | | |
| $10^{25}$ | | | | | (56) | | | |
| $10^{30}$ | 28,3 | 23,2 | 5,1 | 65,0 | 56 | 8,4 | 10,5 | |
| $10^{35}$ | | | | | (57) | | | |
| $10^{40}$ | | | | | (58) | | | |
| $10^{45}$ | 28,5 | 23,9 | 4,6 | 68,3 | 59 | 7,7 | 7,0 | |
| $10^{50}$ | | | | | (61) | | | |
| $10^{55}$ | | | | | (64) | | | |
| 11h | 28,6 | 24,7 | 3,9 | 72,8 | 66 | 9,1 | 14,0 | |
| | | | | $H_2O$-Abgabe für die Stunde | | 32,9 | 44,1 | |

Fortsetzung zu Versuch III.

| Zeit | Kasten: Thermomet. trocken | Kasten: Thermomet. feucht | Kasten: psychr. Diff. | Kasten: Rel. Feucht. Psychrom. | Kasten: Rel. Feucht. Hygrom. | $H_2O$-Abgabe in g pro 15': Psychrom. | $H_2O$-Abgabe in g pro 15': Hygrom. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 12h | 26,4 | 20,8 | 5,6 | 60,4 | 54 | | | |
| 12 5 | | | | | (57) | | | |
| 1210 | | | | | (58) | | | |
| 1215 | 27,3 | 22,6 | 4,7 | 66,9 | 60 | 17,5 | 16,1 | Zimmertemp. 27,6° C |
| 1220 | | | | | (61) | | | |
| 1225 | | | | | (62) | | | |
| 1230 | 27,5 | 23,2 | 4,3 | 69,6 | 63 | 6,3 | 7,0 | Zimmertemp. 27,9° C |
| 1235 | | | | | (63) | | | |
| 1240 | | | | | (63) | | | |
| 1245 | 28,9 | 24,1 | 4,8 | 67,3 | 63 | 5,6 | 9,1 | Zimmertemp. 29,2° C |
| 1250 | | | | | (63) | | | |
| 1255 | | | | | (63) | | | |
| 1h | 28,7 | 24,5 | 4,2 | 70,9 | 65 | 5,6 | 2,8 | |
| | | | | $H_2O$ Abgabe für die Stunde | | 35,0 | 35,0 | |

**Versuche 1—4. Cand. med. Schmidt. (4 stünd. Perioden.)**

| Zeit | Ventilation: Temp. des Einstr. | Ventilation: Temp. des Ausstr. | Ventil.-Größe in 4 Std. cbm | Relat. Feucht. im Kasten Mittel | $H_2O$-Abgabe in g pro Std. | $CO_2$-Abgabe in g pro Std. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 11h | 20,7 | 21,2 | — | — | — | — | Versuch 1. 7. VII. |
| 3h | 21,0 | 22,4 | 141,6 | 49,95 | 35,5 | 27,5 | |
| 335 | 21,2 | 23,0 | — | — | — | — | Arbeit (32000 mkg in 4 Std.) |
| 735 | 20,6 | 23,0 | 142,6 | 59,57 | 197,0 | 81,5 | Intervall: 60'. |
| 835 | 21,0 | 23,0 | — | — | — | — | |
| 1235 | 21,1 | 23,2 | 143,4 | 54,9 | 36,2 | 29,3 | |
| 830 | 20,6 | 22,0 | — | — | — | — | Versuch 2. 13. VII. |
| 1230 | 21,1 | 22,6 | 142 | 67,00 | 45,9 | 32,4 | |
| 1h | 20,8 | 23,0 | — | — | — | — | Arbeit (16000 mkg in 4 Std.) |
| 5h | 21,1 | 23,1 | 144,2 | 75,53 | 89,5 | 58,6 | Intervall: 35'. |
| 535 | 21,1 | 23,0 | — | — | — | — | |
| 935 | 20,7 | 23,0 | 146,7 | 66,56 | 54,3 | 32,7 | |

| Zeit | Ventilation | | | Relat. Feuchtigkeit im Kasten Mittel | $H_2O$-Abgabe in g pro Std. | $CO_2$-Abgabe in g pro Std. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Temp. des Einstr. | Temp. des Ausstr. | Ventil.-Gröfse in 4 Std. cbm | | | | |
| 8h | 18,0 | 19,7 | — | — | — | — | Versuch 3. 21. VII. |
| 12h | 19,9 | 21,6 | 142 | 68,5 | 45,5 | 33,5 | |
| $12^{35}$ | 19,9 | 21,7 | — | — | — | — | Arbeit (20000 mkg in 4 Std.) |
| $4^{35}$ | 20,5 | 22,8 | 144 | 71,5 | 171,7 | 80,4 | Intervall: 35'. |
| $5^{10}$ | 20,6 | 22,2 | — | — | — | — | |
| $9^{10}$ | 20,3 | 22,0 | 146 | 65,14 | 50,2 | 40,5 | |
| $10^{30}$ | 19,8 | 21,8 | — | — | — | — | Versuch 4. 31. VII. |
| $2^{30}$ | 20.4 | 22,3 | 142,7 | 62,32 | 37,3 | 31,8 | |
| $3^{48}$ | 20,5 | 22,1 | — | — | — | — | Arbeit aufserhalb d. Kastens |
| $7^{48}$ | 20,8 | 23,0 | 144,9 | 60,42 | 43,6 | 31,9 | in 1 Stunde: 28750 mkg. Intervall: einige Minuten. |

## Berichtigung.

In der Arbeit »Experimentelle Studien über die Durchgängigkeit des Magendarmkanals neugeborener Tiere für Bakterien und genuine Eiweifsstoffe« von Dr. Albert Uffenheimer in Band 55 ist die Anmerkung 2 auf S. 76 und 77, die durch eine neue ersetzt wurde, infolge eines Versehens der Druckerei nur in den Sonderabdrücken berücksichtigt worden; sie ist also durch nachstehende zu ersetzen:

2) An dieser Stelle möchte ich auf eine neuere Veröffentlichung Schlofsmanns hinweisen; dieser Autor glaubt — ohne dafür allerdings in seinen Krankengeschichten einen Beweis beibringen zu können (der doch experimentell leicht möglich wäre) —, dafs beim Abstillen usw. (also am Ende der Säuglingsperiode noch) durch Eindringen artfremden Eiweifses ins Blut Vergiftungserscheinungen entstehen können.

323

# Organeiweifs und Nahrungseiweifs.

Von

**Dr. Ulrich Friedemann,**
Assistenten am Institut.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Rubner.)

Die spezifischen biologischen Reaktionen, welche die Forschung auf dem Immunitätsgebiet aufdeckte, gestatten bekauntlich Stoffe zu differenzieren, die den chemischen Methoden gegenüber sich durchaus gleichartig verhalteu. Gelingt es doch, nicht nur Unterschiede zwischen den Eiweifskörpern verschiedener Arten, sondern auch bei der gleichen Spezies individuelle Differenzen in der Zusammensetzung gewisser Zellen und Stoffe nachzuweisen.

So verhalten sich die roten Blutzellen verschiedener Ziegen gegenüber einem durch Injektion von Ziegenblut bei Tieren der gleichen Spezies erzeugten Isolysinserum durchaus ungleichartig. (Ehrlich und Morgenroth.)[1]) Landsteiner[2]) beobachtete beim Menschen normale Isoagglutinine und Weichardt[3]) konnte auch die Sera verschiedener menschlicher Individuen durch die erzeugten Präzipitine differenzieren. Aber auch die aus verschiedenen Organen desselben Organismus stammenden Eiweifskörper weisen gewisse Verschiedenheiten bei der Immunisierung auf.

1) Berliner Klin. Wochenschr., 1900, Nr. 21.
2) Zentralbl. f. Bakt. 1900. — Wiener Klin. Wochenschr., 1901, Nr. 46.
3) Hygien. Rundschau, 1903, S. 756.

Es konnte bei dieser grofsen Feinheit der biologischen Reaktionen aussichtsvoll erscheinen, auch Veränderungen der Säfte des Körpers, welche unter bestimmten Bedingungen eintreten, mit Hilfe der Präzipitinreaktion zu studieren, und Herr Geheimrat Rubner gab mir daher die Anregung, das Serum von hungernden und fressenden Hunden mit der biologischen Methode zu vergleichen.

Dieser Versuch knüpft an eine alte Streitfrage an, welche in der Lehre von der Ernährung und vom Stoffwechsel eine grofse Rolle gespielt hat und auch heute noch nicht entschieden ist. Liebig vertrat bekanntlich die Ansicht, dafs das Eiweifs der Nahrung dazu diene, die bei der Muskelarbeit zerfallenden Zellen des Organismus zu regenerieren, und dafs der Stoffwechsel nur durch den Zerfall und Wiederaufbau organisierter Substanz zu erklären sei. Nachdem dieser Theorie vor allem durch die experimentellen Arbeiten C. Voits der Boden entzogen war, wurde ihr Kernpunkt in veränderter Form von Pflüger wieder zum Mittelpunkt seiner bekannten Theorie des Stoffwechsels gemacht. Nicht die Zellen selbst zerfallen bei den Stoffwechselvorgängen, sondern das Molekül der lebenden Substanz, welches aufserordentlich labil ist und sich fortwährend zersetzt und wieder aufbaut. Demgegenüber hatte C. Voit schon längere Zeit vorher die Ansicht ausgesprochen, dafs der Zerfall der lebendigen Substanz durch die Nahrungszufuhr nicht gesteigert werden könne, und dafs daher beim Stoffwechsel das Nahrungseiweifs nicht erst in Organeiweifs umgewandelt, sondern direkt unter dem Einflufs der Zellen verbrannt würde. C. Voit stützte seine Meinung vor allem auf die Tatsache, dafs das in der Nahrung zugeführte Eiweifs vom Organismus so aufserordentlich leicht verbrannt wird, während im Hunger das Tier seinen Eiweifsbestand nach Möglichkeit zu erhalten bestrebt ist. Einen exakten Ausdruck für dieses Verhalten gab aber erst die energetische Betrachtungsweise Rubners. Die fundamentale Tatsache, dafs beim hungernden Hunde durch eine nicht zu reichliche Eiweifsmahlzeit die Wärmeproduktion nicht gesteigert wird, kann nur unter der Annahme erklärt werden, dafs der hungernde Hund seinen Energiebedarf in erster Linie

durch Verbrennung des Fettes deckt, während der mit Eiweifs gefütterte Hund zunächst dieses angreift. Es folgt daraus, dafs das Eiweifs des hungernden Organismus schwerer, das des gefütterten aber leichter verbrennlich als Fett ist, und es unterliegt keinem Zweifel, dafs diese Tatsache mit der Voitschen Unterscheidung vom zirkulierenden Nahrungseiweifs und dem Organeiweifs gut zu vereinen ist. Auch Krehl[1]) nimmt neuerdings an, dafs die Eiweifsspaltungsprodukte in der Darmwand zunächst zu leicht verbrennlichen Verbindungen zusammengesetzt werden. Immerhin sind die vorliegenden Tatsachen auch anderer Deutung fähig, und es erschien daher angezeigt, die Frage des zirkulierenden Eiweifses mit einer neuen Methode zu studieren.

Man kann annehmen, dafs am Ende der Hungerzeit das Nahrungseiweifs aus der Blutbahn verschwunden ist und der Hund, sobald er sein Fett verloren hat, vorwiegend von seinem Organeiweifs zehrt. Besteht also ein Unterschied zwischen zirkulierendem Eiweifs und Organeiweifs, so konnte möglicherweise das Serum des gut gefütterten Hundes und das eines Tieres im extremen Hunger gewisse Differenzen aufweisen.

Um individuelle Unterschiede auszuschliefsen, wurde zu allen diesen Versuchen derselbe Hund benutzt, welcher abwechselnd längeren Hungerperioden (gewöhnlich drei Wochen) ausgesetzt und inzwischen reichlich mit Pferdefleisch ernährt wurde. Am Ende jeder Periode wurde dem Versuchstier Blut entnommen, mit dessen Serum Kaninchen in steigenden Dosen immunisiert wurden. Die resultierenden Immunsera wurden sodann in ihren Reaktionen auf die Sera des fressenden und hungernden Hundes geprüft.

Da natürlich in allen Fällen präzipitierende Sera für Hundeserum zu erwarten waren, so konnten Aufschlüsse nur von der Anwendung der von Ehrlich und Morgenroth in die Immunitätslehre eingeführten spezifischen Absorptionsmethode erwartet werden. In der Ausdrucksweise der Ehrlichschen Seitenkettentheorie mufste sicherlich das Serum des Hundes bei Nahrung

1) Pathologische Physiologie, 3. Auflage, S. 372.

und im Hunger eine grofse Zahl von Rezeptoren gemeinsam haben, während den verschiedenen Zuständen gewisse Partialrezeptoren eigentümlich sein konnten. Alle diese Rezeptoren können bei der Immunisierung bestimmte, auf sie eingestellte Präzipitine erzeugen. Es wurden daher die Immunsera mit dem Hundeserum versetzt, die entstehenden Niederschläge abzentrifugiert und nun geprüft, ob der Präzipitingehalt dabei für das Serum des hungernden und gefütterten Hundes in gleicher Weise abnimmt.

### I. Versuch.

Einem Terrier vom Gewicht 6,7 kg wird, nachdem er seine gewöhnliche Kost genossen, Blut abgelassen und das Serum (a) zur Immunisierung eines Kaninchens A verwandt.[1]) Dasselbe erhält am:

8. IV. 05 1 ccm intravenös,
5. IV. 05 2 » »
8. IV. 05 3 » »
11. IV. 05 5 » »
15. IV. 05 4 » » .

Am 22. IV. wird das Kaninchen entblutet.

Kaninchen B wird mit dem Serum b desselben Hundes gespritzt, nachdem derselbe 14 Tage gehungert hat. Es erhält am:

17. IV. 05 1 ccm intravenös,
19. IV. 05 2 » »
22. IV. 05 3 » »
25. IV. 05 5 » »
29. IV. 05 4 » » .

Am 5. V. Entblutung.

Die Austitrierung der Sera ergab als Fällungsgrenze:

| | | |
|---|---|---|
| 1. Serum A<br>1 ccm (1 : 32)<br>1 ccm (1 : 64) | + 1 ccm Serum a (1 : 100)<br>deutliches Präzipitat<br>schwaches Präzipitat | + 1 ccm Serum b (1 : 100)<br>deutliches Präzipitat<br>schwaches Präzipitat |
| 2. Serum B<br>1 : 16<br>1 : 32 | + 1 ccm Serum a (1 : 100)<br>deutlich<br>schwach | + 1 ccm Serum b (1 : 100)<br>deutlich<br>schwach |

Serum B ist also etwas schwächer als Serum A. Beide weisen aber keine Differenzen gegenüber Serum a und b auf.[2])

1) Die Hundesera wurden zur Konservierung mit 0,25 % Karbol versetzt.

2) Die Röhrchen kamen für 3 Stunden in den Brutschrank und standen dann bis zum folgenden Tag im Eisschrank.

Der Absorptionsversuch wurde nun in folgender Weise angestellt:

I. Serum A:

1. 1 ccm Serum A + 4 ccm Serum a (1 : 10) + 3 ccm NaCl 0,85 %,
2. 1 » » » + 4 » » b (1 : 10) + 3 » » 0,85 %,
3. 1 » » » + 7 » NaCl 0,85 %.

II. Serum B:

1. 1 ccm Serum B + 4 ccm Serum a (1 : 10) + 3 ccm NaCl 0,85 %,
2. 1 » » » + 4 » » b (1 : 10) + 3 » » 0,85 %,
3. 1 » » » + 7 » NaCl 0,85 %.

3 Stunden bei 37°, dann im Eisschrank. Die Niederschläge werden abzentrifugiert und die klaren Zentrifugate nunmehr austitriert. Die Lösungen 3 sind Kontrollen.

**I. Serum A.**

1. Nach Absorption mit a:

| Serum | Serum a 0,025 ccm | Serum b 0,025 ccm |
|---|---|---|
| 1 : 16 | leichte Trübung | leichte Trübung |
| 1 : 32 | 0 | 0 |
| 1 : 64 | 0 | 0 |

Volum: 2 ccm.

2. Nach Absorption mit b:

| Serum | Serum a 0,025 ccm | Serum b 0,025 ccm |
|---|---|---|
| 1 : 16 | ganz feine Trübung | ganz feine Trübung |
| 1 : 32 | 0 | 0 |
| 1 : 64 | 0 | 0 |

3. Kontrolle:

| Serum | Serum a 0,025 ccm | Serum b 0,025 ccm |
|---|---|---|
| 1 : 16 | +++ | +++ |
| 1 : 32 | +++ | +++ |
| 1 : 64 | 0 | 0 |

**II. Serum B.**

1. Nach Absorption mit a:

| Serum | Serum a 0,025 ccm | Serum b 0,025 ccm |
|---|---|---|
| 1 : 16 | ganz feine Trübung | ganz feine Trübung |
| 1 : 32 | 0 | 0 |
| 1 : 64 | 0 | 0 |

2. Nach Absorption mit b:

| Serum | Serum a 0,025 ccm | Serum b 0,025 ccm |
|---|---|---|
| 1 : 16 | ganz feine Trübung | ganz feine Trübung |
| 1 : 32 | 0 | 0 |
| 1 : 64 | 0 | 0 |

3. Kontrolle:

| Serum | Serum a 0,025 ccm | Serum b 0,025 ccm |
|---|---|---|
| 1 : 16 | +++ | +++ |
| 1 : 32 | +? | +? |
| 1 : 64 | 0 | 0 |

Dieser Versuch hat auch bei Anwendung der Absorptionsmethode keinen Unterschied zwischen dem Serum des hungernden und des fressenden Hundes ergeben. Allerdings mufs berücksichtigt werden, dafs möglicherweise die Dauer der Hungerperiode (14 Tage) nicht ausreichte, um einen Wechsel in der Zusammensetzung des Serums zu erzeugen. Ferner wäre es möglich, dafs die ziemlich hochgetriebene Immunisierung etwaige Differenzen verdecken könnte. Um bei der Absorption eine stärkere Abnahme des Präzipitingehaltes zu erzielen, ist es nämlich notwendig, die hochwertigen Sera ziemlich stark zu verdünnen, und es wäre möglich, dafs dadurch etwaige in geringer Menge vorhandene Partialpräzipitine dem Nachweis entgehen können. Infolgedessen wurde in einigen weiteren Versuchen die Methodik in der Weise abgeändert, dafs die unverdünnten Sera durch mehrmalige Absorption mit einem Serum (a oder b) von ihren Präzipitinen befreit und nunmehr auf Fällung gegenüber dem andern Serum untersucht wurden. Da sich jedoch auf diesem Wege irgend eine Differenz nicht ergab, so sei von der ausführlichen Mitteilung dieser Versuche abgesehen.

Nun haben aber Falta und Nöggerath[1]) und neuerdings Friedberger und Moreschi[2]) beobachtet, dafs die Differenzen, welche agglutinierende Sera gegenüber verschiedenen Typhus-

1) Deutsches Archiv f. klin. Medizin, Bd. 83.
2) Berliner klin. Wochenschr. 1905, Nr. 45.

stämmen aufwiesen, nur im Beginn der Immunisierung bestanden und sich mit dem Fortschreiten derselben verwischten. Es war daher möglich, dafs auch für den vorliegenden Zweck niederwertige Sera brauchbarere Verhältnisse bieten würden als höherwertige. Aus diesen Gesichtspunkten wurden die folgenden Versuche unternommen.

**Versuch II.**

Der Hund erhält 3 Tage lang je 500 g Pferdefleisch. Dann Blutentnahme (Serum $a_2$).

Kaninchen A [1]) erhält am:

29. V. 05 1 ccm Serum $a_2$ intravenös,
31. V. 05 2 » » » »
2. VI. 05 3 » » » »
5. VI. 05 3 » » » »

Am 13. VI. Entblutung.

Der Hund hungert nunmehr 3 Wochen; dann Blutentnahme (Serum $b_2$).

Kaninchen B erhält am:

22. VI. 05 1 ccm Serum $b_2$ intravenös,
24. VI. 05 2 » » » »
26. VI. 05 3 » » » » .

Am 3. VII. Blutentnahme.

Titer der Sera:

Serum A fällt die Sera a und b in der Verdünnung 1 : 6 stark, in stärkeren Verdünnungen nicht mehr.

Serum $B_2$ fällt Serum $b_2$ etwas stärker als $a_2$, nämlich in der Verdünnung 1 : 9, während es a nur bis 1 : 6 fällt.

Es folgt nunmehr der Absorptionsversuch:

I. Serum $A_2$:
1. 3 ccm Serum $A_2$ + 3 ccm Serum $a_2$ (1 : 10),
2. 3 » » $A_2$ + 3 » » $b_2$ (1 : 10).
3. 3 » » $A_2$ + 3 » NaCl 0,85 %.

II. Serum $B_2$:
1. 3 ccm Serum $B_2$ + 3 ccm Serum $a_2$ (1 : 10),
2. 3 » » $B_2$ + 3 » » $b_2$ (1 : 10),
3. 3 » » $B_2$ + 3 » NaCl 0,85 %.

3 Stunden bei 37°, 24 Stunden Eisschrank. Dann wird zentrifugiert und austitriert.

1) Es wurden selbstverständlich stets frische Kaninchen benutzt. Die Buchstaben A, a und B, b deuten nur den Ernährungszustand des Hundes an.

**I. Serum $A_2$.**

1. Nach Absorption mit $a_2$:

| Serum | Serum $a_2$ 0,025 ccm | Serum $b_2$ 0,025 ccm |
|---|---|---|
| 1 : 4 | 0? | 0? |
| 1 : 6 | 0 | 0 |
| 1 : 9 | 0 | 0 |

2. Nach Absorption mit $b_2$:

| Serum | Serum $a_2$ 0,025 ccm | Serum $b_2$ 0,025 ccm |
|---|---|---|
| 1 : 4 | geringer, aber deutlicher Niederschlag | 0 |
| 1 : 6 | 0 | 0 |
| 1 : 9 | 0 | 0 |

3. Kontrolle:

| Serum | Serum $a_2$ 0,025 ccm | Serum $b_2$ 0,025 ccm |
|---|---|---|
| 1 : 4 | +++ | +++ |
| 1 : 6 | +++ | +++ |
| 1 : 9 | 0 | 0 |

**II. Serum B.**

1. Nach Absorption mit a:

| Serum | Serum $a_2$ 0,025 ccm | Serum $b_2$ 0,025 ccm |
|---|---|---|
| 1 : 4 | Trübung | Trübung |
| 1 : 6 | 0? | Trübung |
| 1 : 9 | 0 | 0? |

2. Nach Absorption mit b:

| Serum | Serum $a_2$ 0,025 ccm | Serum $b_2$ 0,025 ccm |
|---|---|---|
| 1 : 4 | Trübung | Trübung |
| 1 : 6 | Trübung | Trübung |
| 1 : 9 | 0 | Trübung |
| 1 : 13,5 | 0 | 0 |

3. Kontrolle:

| Serum | Serum $a_3$ 0,025 ccm | Serum $b_3$ 0,025 ccm |
|---|---|---|
| 1 : 6 | +++ | +++ |
| 1 : 9 | +? | +++ |
| 1 : 13,5 | 0 | +? |
| 1 : 20 | 0 | 0 |

Dieser Versuch hat in der Tat eine gewisse Differenz in dem Serum a des fressenden und dem Serum b des hungernden Hundes ergeben. Zunächst wurde Serum b von seinem homologen Serum B stärker gefällt als a. Da sich jedoch mit der Absorptionsmethode Partialpräzipitine für b nicht nachweisen liefsen, so mufs dieser Unterschied wohl auf eine durch irgendwelche Einflüsse verringerte Fällbarkeit des Serums b bezogen werden.

Wichtiger ist dagegen, dafs im Serum A sich nach Absorption mit Serum b ein Partialpräzipitin für a nachweisen liefs. Dies läfst allerdings die Deutung zu, dafs im Serum a des fressenden Hundes gewisse Stoffe enthalten sind, die dem Serum des hungernden Hundes fehlen, und es fragte sich nun, ob diese Differenz wirklich mit der Nahrung zusammenhängt.

Zunächst war daran zu denken, dafs möglicherweise Pferdeeiweifs aus der Nahrung unverändert den Darm passiert haben könnte, wie dies ja bei überreichlicher Ernährung beobachtet worden ist. In der Tat gab 1 ccm des Serums des Kaninchens A mit Perdeserum (1 : 100) ein deutliches Präzipitat, während Serum B mit Pferdeserum nicht reagierte. Um nun diese Annahme zu prüfen, wurde der Hund reichlich mit Pferdefleisch gefüttert, und mit einem gegen Pferdeserum spezifischen Kaninchenserum sein Blutserum auf die Anwesenheit von Pferdeeiweifs geprüft. Es stellte sich dabei jedoch kein Niederschlag ein. Wir müssen also schliefsen, dafs entweder aus zufälligen Gründen bei dem ersten Versuch Pferdeeiweifs den Darm unverändert passierte, oder aber, dafs es sich beim Serum A um eine Mitpräzipitation handelte, wie sie ja nicht selten beobachtet wird.

Schliefslich wäre es nicht unmöglich, dafs das Nahrungseiweifs die Darmwand in einer Formpassiert, in der es zwar nicht mehr präzipitabel, aber noch zur Erzeugung von Antikörpern befähigt, also präzipitogen ist. Eine sichere Entscheidung darüber läfst sich auf Grund dieser Versuche nicht fällen.

Der folgende Versuch zeigt jedoch, dafs höchstwahrscheinlich die gefundenen Differenzen nicht auf den Ernährungszustand des Hundes bezogen werden können.

**Versuch III.**

Der Hund hungert zunächst 3 Wochen, darnach wird Blut entnommen und das Serum b einem Kaninchen B injiziert.

Am 29. IX. 05 1 ccm Serum b intravenös,
» 2. X. 05 2 » » b »
» 4. X. 05 3 » » b » .

Am 13. X. Blutentnahme.

Der Hund erhält nunmehr mehrere Tage 500 g Pferdefleisch täglich. Das Blutserum a wird sodann einem Kaninchen A eingespritzt, und zwar am:

5. X. 05 1 ccm Serum a intravenös,
7. X. 05 2 » » a »
9. X. 05 3 » » a » .

Am 18. X. Blutentnahme.

Serum B fällt 0,025 ccm der Sera a und b (Volumen 2 ccm) in der Verdünnung 1 : 4 deutlich. Zur Absorption werden angesetzt:

1. 6 ccm Serum B + 1 ccm Serum a (1 : 3),
2. 6 » » B + 1 » » a (1 : 3),
3. 6 » » B + 1 » NaCl 0,85 %.

Nach Abzentrifugieren des Niederschlags ergibt die Austitrierung:

**Serum B.**

1. Nach Absorption mit a:

| Serum | Hundeserum | a | b |
|---|---|---|---|
| 1 : 2 | 0,05 ccm | 0 | 0 |
| 1 : 3 | 0,05 » | 0 | 0 |
| 1 : 4,5 | 0,05 » | 0 | 0 |

2. Nach Absorption mit b:

| Serum | Hundeserum | a | b |
|---|---|---|---|
| 1 : 2 | 0,05 ccm | deutlich | 0 |
| 1 : 3 | 0,05 » | 0 | 0 |
| 1 : 4,5 | 0,05 » | 0 | 0 |

3. Kontrolle:

| Serum | Hundeserum | a | b |
|---|---|---|---|
| 1 : 2 | 0,05 ccm | deutlich | deutlich |
| 1 : 3 | 0,05 » | deutlich | deutlich |
| 1 : 4,5 | 0,05 » | deutlich | etwas weniger deutlich |
| 1 : 6,75 | 0,05 » | etwas weniger deutlich | undeutlich |
| 1 : 10 | 0,05 » | 0 | 0 |

Auch bei diesem Versuch ergab sich eine gewisse Differenz zwischen beiden Seris. Doch enthielt in diesem Falle das Serum des Kaninchens, welches mit dem Serum des hungernden Hundes immunisiert wurde, ein Partialpräzipitin für das Serum des genährten Hundes, also für das nicht zur Immunisierung benutzte Serum.

Ist dieses Resultat sehr schwer zu verstehen, so zeigten sich noch merkwürdigere Ergebnisse bei der Untersuchung des Kaninchenserums A. Es ergab sich nämlich die eigentümliche Tatsache, dafs nach Absorption mit dem homologen Serum b das Präzipitin für dieses in weit geringerem Grade geschwunden war als für a. Ähnliche Beobachtungen wurden schon früher bisweilen bei der Bakterienagglutination gemacht[1]) und in neuester Zeit ausführlich von Friedberger und Moreschi beschrieben. Wurde ein Kaninchen mit einem bestimmten Typhusstamm immunisiert, so lieferte es ein Serum, welches nach der Absorption mit dem homologen Stamme seinen Agglutiningehalt für einen andern Stamm in stärkerem Grade eingebüfst hatte, als für den zur Absorption benutzten. Friedberger und Moreschi[2]) knüpfen daran die Auffassung, dafs antigene und bindende Gruppen nicht identisch zu sein brauchten. Ohne auf die theoretische Seite dieser Frage hier eingehen zu können, sei nur bemerkt, dafs derartige Beobachtungen die aus den Absorptionsversuchen gezogenen Schlüsse sehr erschweren.

Das Resultat dieser Untersuchungen läfst sich dahin zusammenfassen, dafs höherwertige Immunsera irgendeine Differenz

1) Vgl. Paltauf, Die Agglutination bei Kolle-Wassermann, Bd. 4, 1.
2) l. c.

zwischen dem Serum des hungernden und des genährten Hundes nicht erkennen lassen. Wird die Immunisierung nicht so hoch getrieben, so verhalten sich die resultierenden Kaninchenimmunsera allerdings den Hundeseris gegenüber verschieden. Irgend eine klar übersehbare Beziehung zwischen der Konstitution der Immunsera und dem Ernährungszustand des Hundes, dessen Serum sie erzeugt hatte, liefs sich jedoch nicht feststellen.

Es mufs überhaupt zweifelhaft erscheinen, ob die geringen Differenzen auf wirkliche Schwankungen in der Zusammensetzung der Säftemasse des Hundes schliefsen lassen; denn es ist sehr wohl möglich, dafs auch nach der Blutentnahme eintretende Umstände Unterschiede sie bedingen können. So hat Klein[1]) kürzlich nachgewiesen, dafs auch gegen Hämoglobin Präzipitine erzeugt werden können, die mit den Serumpräzipitinen nicht identisch sind, und es ist daher möglich, dafs schon geringe Schwankungen im Hämoglobingehalt der Sera, der gerade bei Hunden sich nicht immer völlig vermeiden läfst, die präzipitogenen Eigenschaften des Hundeserums in qualitativer Hinsicht verändern kann.

Herrn Geheimen Medizinalrat Prof. Dr. Rubner erlaube ich mir, für die Anregung zu dieser Arbeit und das derselben entgegengebrachte Interesse meinen ergebensten Dank auszusprechen.

1) Zentralblatt f. Bakter. 39, Bd. 3 und 4.

# Neue biologische Beziehungen zwischen Koli- und Typhusbakterien.
## Zugleich ein Beitrag zur Lehre vom Aggressin.

Von

Dr. **Gottlieb Salus.**

(Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag. Vorstand: Prof. F. Hueppe.)

Nahezu zwei Jahrzehnte sind seit Escherichs[1]) grundlegenden Arbeiten über die Darmbakterien verstrichen; während dieser langen Zeit wurden dem Kolibazillus zahllose Versuche gewidmet und die aus diesen Studien hervorgegangene Literatur ist kaum mehr zu übersehen. Nichtsdestoweniger sind gerade jene Fragen, welche den Pathologen in erster Reihe interessieren müssen, auch heute noch offen, ob nämlich der Kolibazillus überhaupt ein Krankheitserreger sei und die weitere nach seinen Beziehungen zum Typhusbakterium, ob er mit diesem, wie schon in den neunziger Jahren Rodet, G. Roux[2]) und die Lyoner Schule wollten, identisch oder ihm verwandt oder gar von ihm total verschieden sei. Wenn es auch zu keiner Zeit an Antworten, bejahenden wie verneinenden, gefehlt hat, so blieb man doch nach keiner Richtung genügend

1) Escherich: Die Darmbakterien des Säuglings und ihre Beziehungen zur Physiologie der Verdauung. 1886, Stuttgart.

2) Roux et Rodet: Identité du bacille d'Eberth et du bacterium coli commune. Lyon, méd., 1891.

überzeugt, wie besonders das neuerliche Auftauchen der Identitätsfrage beweist. Und immer wieder war es die augenfällige Verwandtschaft mit dem Typhusbazillus, welcher das Colibakterium die ihm gewidmete besondere Aufmerksamkeit zu verdanken hatte.

Wenden wir uns zunächst der Frage nach den pathogenen Fähigkeiten des Kolibazillus zu.

Diese wurden zuerst in ebenso einwandfreier als vorsichtiger Weise von Hueppe[1]) im Zusammenhange mit einem Falle von Cholera nostras hervorgehoben; die Autoren, welche ihm nachfolgten, liefsen jedoch diese Vorsicht aufser acht, und es gab bald kaum ein Krankheitsbild mehr allgemeiner Natur, das man nicht auf diesen Spaltpilz glaubte beziehen zu können; man stützte sich dabei auf sein oft alleiniges Vorkommen in den Krankheitsherden, besonders bei Leichenbefunden. Es waren eben noch die Gefahren nicht gewürdigt, welche dem Beobachter drohen, wenn er einen soweit verbreiteten und auf den üblichen Nährböden so überaus leicht züchtbaren Darmsaprophyten mit einer Affektion glaubt in Beziehung bringen zu müssen. Erst später lernte man die postmortale Einwanderung, den Nosoparasitismus und das Überwuchertwerden anderer ätiologisch bedeutsamerer, aber den gewöhnlichen Nährsubstraten weniger angepafster Bakterien kennen.[2]) Die durch Erkenntnis dieser Tatsachen immer sorgfältiger gewordene Kritik hat dann den gröfsten Teil der nach Gilberts[3]) Vorgang als »Kolibazillosen« bezeichneten Affektionen wieder gestrichen. Heute ist man von jener Überschätzung weit entfernt und anerkennt nur mehr einzelne Affektionen als durch Koliinfektion bedingt namentlich gewisse Erkrankungen der Harnwege (Bakteriurie, ein Teil der »sauren Zystitiden«, Pyelitisfälle), dann die seltenen Koliseptikämien des frühesten Kindesalters

1) Hueppe, Berliner klin. Wochenschr., 1887.

2) Literatur in G. Salus: Über Bacterium coli. Sammelreferat Prager med. Wochenschrift, 1899.

Escherich, Zur Ätiologie d. Dysenterie, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 26, 1899.

3) Gilbert, La coli-bacillose Traité de méd. et thérapeutique, Tom 1, 1895.

(Winckelsche Krankheit von Kamen[1]) Kowalewsky und Moro[2]), die ebenfalls sehr seltenen Septikämien durch Koli von den Harn- oder Gallenwegen aus und jene ruhrartigen Erkrankungen, welche Escherich[3]) als »colicolitis« bezeichnete und deren Beziehungen zur echten Ruhr und ihrem Erreger, dem Kruse-Shigaschen Bazillus, noch der Klärung bedürfen. Aber auch heute noch gibt es Skeptiker, die überhaupt die Existenz von Kolibazillosen zu leugnen geneigt sind, und man mufs zugestehen, dafs das meist recht vage Krankheitsbild nebst dem Vorkommen der Bazillen in den Krankheitsherden als ätiologisches Beweismaterial nicht mehr befriedigt, und man der Diagnose der Koliinfekte nur den Wert der Wahrscheinlichkeitsrechnung zubilligen könne. Deshalb versuchte Pfaundler[4]) 1898 die Agglutination als exaktes Beweismittel in die Diagnostik der Coliinfekte, speziell jener der Harnwege und der ruhrartigen Erkrankungen des Kindesalters einzuführen. Hiervon sagt Escherich: »Er zeigte, dafs die Bouillonkulturen der aus Harn gezüchteten Bazillen, mit dem Serum der betreffenden Patienten gemischt, noch in erheblicher Verdünnung die von Gruber experimentell bei Koliinfekten nachgewiesene Agglutination geben. Durch diese Tatsache war der überzeugende Nachweis erbracht, dafs die Kolibazillen des Harnes nicht, wie von Rovsing, Maxwell und Clarke behauptet wurde, bedeutungslose Nosoparasiten oder sekundäre Ansiedler sind, welche an die Stelle der eigentlichen Krankheitserreger getreten, sondern dafs die von ihnen gebildeten Toxine in den Körper eingedrungen sind und eine spezifische Reaktion desselben hervorgerufen haben. Es war damit zum ersten Male in der Pathologie des Menschen auch auf diesem Wege der Nachweis erbracht, dafs das Bact. coli für den Menschen pathogene Bedeutung

1) Kamen, Die Ätiologie der Winckelschen Krankheit, Zieglers Beiträge zur pathol. Anat., Bd. 14, 1896.

2) Kowalevsky und Moro, Klin.-therapeut. Wochenschr. 1901, Nr. 50.

3) Escherich und Pfaundler, Bacterium coli commune in Kolle-Wassermann, Handbuch der pathog. Mikroorganismen, Bd. II, S. 443.

4) Pfaundler, M. Zur Serodiagnostik im Kindesalter etc. Jahrbuch für Kinderheilkunde, Bd. 50, 1899.

gewinnen kann und zugleich die praktische Verwertung der später so erfolgreichen Serodiagnostik der Kolibazillose eröffnet.«

Aber dieser Auffassung von der Bedeutung der Agglutinine im Blutserum der Kranken kann man deshalb nicht beistimmen, weil sie mit den Toxinen, überhaupt mit der Infektion direkt in keinem Zusammenhange stehen, wie sie bekanntlich auch zur Immunität keine direkten Beziehungen haben. Die Entstehung der Agglutinine ist vielmehr lediglich der Ausdruck der Auflösung und Resorption von Leibesbestandteilen (vielleicht von Bestandteilen der Leibeshülle) der Bakterien einer gewissen Art. Dafs bei diesem biochemischen Vorgange direkte Beziehungen zur Infektion fehlen, geht zur Genüge daraus hervor, dafs man die höchsten Agglutinationswerte durch die Einverleibung abgetöteter Bazillen erhält; dafs man die Bazillen nach Paltauf[1]) auf beliebigem Wege auch stomachal einbringen kann, um Agglutininbildung zu erzielen, was bekanntlich für die Infektion nicht gilt. Auffallend wäre es auch, dafs die Agglutinationswerte für Typhus gerade beim kranken Menschen gegenüber den mit toten Bazillen behandelten Tieren meist verhältnismäfsig niedrige sind, während doch der Abdominaltyphus eine exquisite Menschenkrankheit ist. Sehr beredt sprechen auch für unsere Auffassung die schönen Versuche von Stäubli[2]), nach denen bei stärkerer initialer Infektion der Versuchstiere eine derartige Beeinträchtigung des Organismus erfolgt, dafs dieser Agglutinine gar nicht oder nur in geringem Mafse zu bilden vermag, während bei kleinen Anfangsgaben, die ohne Störung im Wohlbefinden vertragen wurden, ein rasches Einsetzen der biologischen Reaktion beobachtet werden konnte. Man hat es immer bedauert, dafs es nicht gelingen wollte, gesetzmäfsige Beziehungen zwischen der Schwere der Infektion und der Höhe der Agglutination aufzufinden; diese Erwartung mufs man überhaupt aufgeben, da die eingetretene Infektion (d. h. die bis zu sichtlicher

1) Paltauf, Agglutination im Handbuch von Kolle und Wassermann, Bd. IV.

2) Stäubli, Über die Bildung des Typhusagglutinins. Zentralbl. für Bakt., 1904, I. Bd. XXXVI., Nr. 2.

Schädigung des Organismus gediehene Invasion) für den biologischen Vorgang der Agglutininbildung geradezu ein Hemmnis bedeutet. Wenn überhaupt Beziehungen bestünden, so könnten Höhe der Agglutination und Schwere der Infektion nur in umgekehrtem Verhältnis zueinander stehen.

Immerhin bleibt die diagnostische Bedeutung des Phänomens indirekt insofern erhalten, als körperfremde Bazillen in der Regel nur bei gleichzeitiger Infektion zur Auflösung in den Geweben gelangen werden; aber ohne Ausnahme wird auch diese Regel nicht sein, und wenn man schon in Epidemiezeiten in den Fäces Gesunder und gesund Bleibender lebende Typhusbazillen gefunden hat, so wird der Schritt nicht allzuweit sein zu dem Zugeständnisse, dafs gelegentlich auch bei einem erfolglosen Infektionsversuche Bakterien in den Geweben zur Auflösung gelangen können. Und schon geringe Mengen aufgelöster und resorbierter Bakteriensubstanz reichen aus, um diese überaus empfindliche Reaktion im Blute auszulösen. Vielleicht lassen sich aus diesem Verhalten manche, aus positivem Ausfall der Gruber-Widalschen Reaktion hergeleitete Fehldiagnosen erklären. Vollends bei einem weit verbreiteten Darmbewohner, der — wie der Kolibazillus — das Bestreben zeigt, in alle abgestorbenen oder auch nur geschwächten Gewebspartien einzudringen, wird man sich auf die Agglutination um so weniger stützen können, als begreiflicherweise schon das Serum des nicht nachweislich an Koliinfekten kranken Menschen in mehr als der Hälfte der Fälle für Kolibazillen beträchtliche Agglutinationswerte zeigt. Denn hier ist an Gelegenheiten zum Bakterienzerfall und zur Resorption gelöster Bakterien kein Mangel. In der Tat gibt gerade Pfaundler neuerdings zu, »dafs eine praktische Serodiagnostik, etwa jener bei Abdominaltyphus vergleichbar, noch nicht geschaffen ist«, und dafs man hier mit vielen Fehlerquellen zu rechnen habe.

Wer zwischen den Zeilen zu lesen vermag, dem wird die Unsicherheit gegenüber der Stellung des Kolibazillus als pathogenen Keimes in der Literatur nicht entgangen sein. So reden

zwar Escherich und Pfaundler[1]) den Kolibazillosen recht eifrig das Wort, trennen den Bazillus aber doch von den »eigentlichen Krankheitserregern«, womit wohl gesagt sein soll, dafs sein eigentliches Wesen im Saprophytismus liege und er nur gelegentlich, mehr zufällig, sich unter die pathogenen Mikroorganismen verirre. Andere weisen wieder, in der Absicht, die pathogenen Fähigkeiten unseres Mikroben plausibler zu machen, auf seine nahe Verwandtschaft mit dem Bact. typhi hin, wie man etwa nahen Verwandten eines notorischen Missetäters auch eher alles Böse zutraut.

Waren sonach in der Menschenpathologie ausreichende Beweise für die Pathogenität des Bact. coli nicht zu finden, so hatte sich dafür ein wichtiger Hinweis aus den Tierexperimenten ergeben, welche zeigten, dafs die Virulenz des Kolibazillus eine hohe sei, ja dafs sie in der Regel jene der Typhusbazillen übertrifft; so tötete beispielsweise bei Löffler und Abel[2]) der virulenteste Typhusstamm (Typhus Koch) Meerschweinchen von 200—300 g in der Dosis von $^1/_{50}$ Öse einer 24stündigen Agarkultur, während vom Kolistamm Wenzel unter gleichen Bedingungen $^1/_{500}$ Öse, sogar in kürzerer Zeit, tötete (bei Pfeiffer und Kolle[3]) haben die virulentesten, frisch aus der Milz gezüchteten Typhuskulturen eine Virulenz von $^1/_{30}$—$^1/_{50}$ Öse 20stündiger Agarkultur). Aber der Begriff der Virulenz ist ein unklarer, er zieht nur den Endeffekt, den Tod des Tieres in Rechnung, ohne die Art zu berücksichtigen, wie Krankheit und Tod zustande kommen. Wie Verschiedenes im einzelnen Falle die »Virulenz« bedeutet, geht aus folgender Betrachtung hervor: In mehr als 30 Versuchen an Kaninchen und Meerschweinchen mit intrapleuraler resp. intraperitonealer Einverleibung grofser Mengen von 4 Stämmen angehöriger Diphtheriebazillen vermochte ich niemals eine Vermehrung der Bazillen im Tierkörper zu erzielen. Die Tiere gingen

1) Pfanndler: Immunität gegen Bact. coli im Handbuche von Kolle und Wassermann.

2) Löffler und Abel, Über die spezifischen Eigenschaften der Schutzkörper im Blute typbus- nnd coli-immuner Tiere. Zentralbl. f. Bakt., 1896 I., 19, S. 51 ff.

3) Pfeiffer und Kolle, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 21, S. 203, 1896.

bei gröfseren Mengen (bis 10 Kulturen auf Löfflerserum) rascher zugrunde, frühestens nach 9 Stunden, aber stets unter dem bekannten Bilde des Toxintodes. Hier ist also Virulenz vom Virus herzuleiten. Bei der Hueppeschen hämorrhagischen Septikämie wiederum ist von einer Giftwirkung gar nichts wahrnehmbar, vielmehr erfolgt der Tod infolge der schrankenlosen Vermehrung der Bazillen und des Einbruchs derselben in die Blutbahn. Da bedeutet Virulenz soviel wie unbegrenzte Vermehrungsfähigkeit. Beim Typhus wiederum mufs zunächst eine beträchtliche, aber nicht unbeschränkte, lokale Vermehrung erfolgen, ehe dann die Giftwirkung den Tod der Tiere bewirkt. Da treten zum Begriffe der Virulenz Vermehrungsmöglichkeit und Giftwirkung zusammen.[1]) Es schien dem Verfasser daher aus dem Grunde die Bailsche Aggressintheorie besonders geeignet, den Ausgangspunkt experimenteller Untersuchungen über die Pathogenität zu bilden, weil sie den Virulenzbegriff in seine Faktoren zerlegt und die Giftwirkungen, welche uns noch recht wenig klar sind, beiseite lassend, uns in der Fähigkeit, im Tierkörper zu haften und sich dort zu vermehren, einen festen Mafsstab in die Hand gibt. Wenn wir von den, offenbar nicht zahlreichen Krankheitserregern absehen, welche, wie der Diphtheriebazillus, ein sehr heftiges Gift bilden, das schon bei Resorption von minimalen Mengen von der Oberfläche her tödlich wirkt, Bazillen, die einer Haftung im Tierkörper überhaupt nicht bedürfen, deren Wirkung eher als Intoxikation denn als Infektion zu bezeichnen ist, so bilden alle anderen pathogenen Keime Aggressin. Was unter diesem Namen zu verstehen ist, geht aus den Arbeiten von Bail[2]),

1) Interessanterweise fanden viele Autoren (Cesaris Demel und Orlandi, Gabritschevsky, Pfaundler u. a.), dafs unmittelbar aus ihrem saprophytischen Leben heraus gezüchtete Kolistämme eine geringere Virulenz haben und die Giftwirkung in den Vordergrund tritt, die sich somit als eine saprophytische Eigenschaft kundgibt. Auch durch gröfsere Mengen abgetöteter Bazilien kann man den Tod herbeiführen. Die aus dem kranken Körper gezüchteten Bazillen haben eine gröfsere Virulenz, sie töten in Bruchteilen einer Öse. Die ersteren sind als Halbsaprophyten, die letzteren als Halbparasiten zu bezeichnen.

2) Bail O., Untersuchungen über Typhus- und Choleraimmunität, Archiv f. Hyg., Bd. LII. — Über das Aggressin des Tuberkelbazillus. Wiener klin.

Weil[1]) und Kikuchi[2]) zur Genüge hervor. Die untersuchten Bakterien (Milzbrand, Hühnercholera; Cholera, Typhus, Dysenterie) vermehren sich im Tierkörper unter Bildung von Flüssigkeiten (Exsudaten, Ödemen), welche — von den Bakterien befreit — an sich meist unschädlich sind, aber die Fähigkeit besitzen, das Haften und die Vermehrung der homologen Bakterien im Tiere zu befördern. Es kann in einem derartigen Exsudate neben dem »Aggressin« auch ein Toxin vorkommen, doch geschieht dies nur ausnahmsweise (z. B. bei Dysenterie nach Kikuchi); es kann geschehen, dafs ein Stamm (vide ibidem) zunächst nur in gröfseren Mengen haftet, doch wird die Menge immer kleiner, je wirksamer sein Aggressin durch Tierpassagen geworden ist. Auch Saprophyten kann man, wie Weil wenigstens am Subtilis zeigte, zur Aggressinbildung zwingen, aber mit der ersten Überimpfung auf einen künstlichen Nährboden ist diese Fähigkeit wieder in Verlust geraten. Von diesen Gesichtspunkten aus wurde der Kolibazillus auf seine pathogenen Fähigkeiten geprüft.

## Eigene Versuche.

Der von mir verwendete Kolistamm ist ein typisches bacterium coli commune, das unter der Bezeichnung »Koli Prag« seit langem im Institute fortgezüchtet wird. Es ist recht lebhaft beweglich, vergärt Zuckerarten, koaguliert Milch, bildet Indol, wächst auf Drigalski-Conradi-Nährboden rot. Seine Virulenz, welche sich recht konstant erwies, beträgt für ein Meerschweinchen von 200 g bei Verwendung einer 20stündigen Agarkultur

Wochenschr., 1905, Nr. 21. — Untersuchungen über die Aggressivität des Choleravibrio. Archiv f. Hyg., Bd. LIII. — Überempfindlichkeit bei tuberkulösen Tieren. Wiener klin. Wochenschr., 1905, Nr. 30.

1) E. Weil, Untersuchungen über Infektion und Immunität bei Hühnercholera. Archiv f. Hyg., Bd. LII. — Die passive Aggressinimmunität bei Hühnercholera. Wiener klin. Wochenschr., 1905, Nr. 16. — Über die Wachstumsmöglichkeit des Heubazillus im Tierkörper. Wiener klin. Wochenschr., 1905, Nr. 25. — Die schützenden Eigenschaften des Blutes von aggressinimmunen Hühnercholeratieren. Archiv f. Hyg., Bd. LIV.

2) Kikuchi Y., Untersuchungen über den Shiga-Kruseschen Dysenteriebazillus. Archiv f. Hyg., Bd. LII.

$^1/_{40}$ Öse. Über 24 Stunden alte Kulturen enthalten schon so viele tote Bazillen, dafs die Virulenz sinkt und inkonstant wird, weshalb stets junge Kulturen Verwendung fanden. Da sich auch der in den weiteren Versuchen verwendete Typhusstamm »Typhus Dobrzan« als recht virulent (tödliche Dosis für ein M 200 g $= ^1/_{25}$ Öse) und konstant erwies, wurde von Serienimpfungen Abstand genommen, und es sind die Versuche ausschliefslich mit stets neuen Kulturen, die von Kulturbazillen stammen, ausgeführt.

Um wirksames Aggressin zu gewinnen, wurden später grofse Meerschweinchen, von ca. 600 g mit grofsen Bazillenmengen (Agarkultur, in junger Bouillonkultur aufgeschwemmt) intraperitoneal geimpft. Das unter allen aseptischen Kautelen gewonnene Peritonealexsudat wurde durch mehrere Stunden sorgfältig zentrifugiert, bis es zell- und bakterienfrei erschien. Dann wurde die klare, gelbliche fadenziehende Flüssigkeit mit Toluol versetzt und in den Eisschrank gestellt. Von Zeit zu Zeit impft man davon in Bouillon ab, und wenn zwei aufeinander folgende Impfungen ein negatives Resultat ergeben haben, dann ist das Exsudat gebrauchsfertig. Darüber verstreichen gewöhnlich 2—3 Tage.

Das Aggressin erwies sich bei subkutaner und intraperitonealer Injection in Mengen von 1, 2, 2,5 ccm bei Meerschweinchen unschädlich; eine Kaninchen vertrug ohne Gewichtsabnahme 3 Injektionen von 2, 3 und 6 ccm; nachdem es durch mehrere Blutentnahmen geschwächt worden war, trat eine passagere Gewichtsabnahme auf die Injektion von 10 ccm eines Aggressins ein, nach welchem auch die injizierten Meerschweinchen durch 3—4 Tage einen Stillstand des Gewichtes zeigten. Der Verlust eines Tieres durch Aggressininjektion ist niemals vorgekommen.

---

1) Dörr (Wiener klin. Wochenschr., Nr. 42) erwähnt die Möglichkeit, dafs eine ähnliche Wirkung wie die der Aggressine entstehen kann, wenn man das Toluol zu verdunsten vergifst. Abgesehen davon, dafs Immunität nicht zu erzielen wäre, ist man in hier nicht aufgenommenen Versuchen oft genug in der Lage gewesen, durch sorgfältiges Abzentrifugieren jede Sterilisierung, also auch den Toluolzusatz zu ersparen. Auch könnte das Toluol nur lokal reizen, während man Aggressin und Bazillen an verschiedener Stelle einbringen kann, z. B. Aggressin subkutan, Bazillen intraperitoneal.

Zum Beispiel:

M. 290 g 18. V. 1 ccm Aggr. subkut., kein Infiltrat. 18. VI. Gewicht 365 g,
M. 325 g 16. VI. 2 » » » » » 19. VI. » 350 g,
M. 180 g 25. VIII. 1,5 » » » 6. IX. 2 ccm Aggr. 14. IX. Gewicht 245 g,
M. 195 g 27. IX. 2,5 » » » 29. IX. kein Infiltrat 195 g, 17. X. Gewicht 285 g,
M. 210 g 27. IX. 2 » » » 29. IX. » » 205 g, 17. X. Gewicht 285 g,
M. 195 g 27. IX. 2 » » » 29. IX. » » 195 g, 5. X. Gewicht 225 g,
Kan. 835 g 19. VI. 2 » » » 27. VI. 1030 g, 3 ccm Aggr., 3. VII. 1110 g, 6 ccm Aggr., 27. IX. 2055 g, nach 10 ccm Aggr. vorübergehend abgenommen.

Unter den von Bail festgestellten Eigenschaften der Aggressine wurden folgende in unseren Versuchen herangezogen:

1. Die Verwandlung untertödlicher Mengen von Koli in tödliche
2. Die Umwandlung des Befundes der leichteren Infektion, wie er sonst durch die einfach tödliche Dosis oder niedere Multipla derselben bedingt wird, in das anatomische Bild der schweren Infektion
3. Die Erzeugung aktiver Immunität mit dem blofsen, sterilen Aggressin.

Zunächst wurde geprüft, ob sich durch Mitinjektion des sterilisierten Exsudats mit Bazillen überhaupt ein Unterschied ergebe.

M. I von 210 g bekommt 1 Öse Koli intraperitoneal: stirbt nach 21 Std.; liefert 3½ ccm Exsudat. Exsudat zentrifugiert, mit Toluol sterilisiert.

M. II, 230 g, bekommt 2 ccm dieses Exsudats + 1/10 Öse Koli intraperitoneal, stirbt nach 12 Std.; minimale Auflagerungen am Leberrand, darin spärliche Leukozyten, sehr zahlreiche Bazillen. 7 ccm trübes, fast zellfreies Exsudat mit zahllosen Bazillen.

Kontrolltier M. III, 210 g, bekommt 1/10 Öse Koli intraperitoneal; stirbt nach 22 Std. mit reichlichen Auflagerungen auf Leber, Milz und Netz, welche viele Leukozyten und namentlich viele Phagozyten zeigen. Zellreiches, rasch gerinnendes Exsudat. Ziemlich viele Bazillen.

Es ist also das Kontrolltier, obwohl kleiner, um 10 Stunden später und unter minder schwerem Befunde gestorben.

**II. Versuch (Aggressin von M IV).** [1])

M. V., 260 g, $^1/_{40}$ Öse Koli intraperitoneal in 3 ccm physiol. Kochsalzlösung.[2])

Kapillarentnahmen: Nach 3 Std.: Viele Leukozyten, Bazillen ganz vereinzelt.

Nach 5 Std.: Der Tropfen voll Leukozyten, einzelne Bazillen erst in vielen Gesichtsfeldern.

Nach 7 Std.: Bazillen verschwunden. Leukozyten in Abnahme, bleibt dauernd gesund.

M. VI, 290 g, bekommt $^1/_{40}$ Öse Koli in 3 ccm sterilen Aggressins intraperitoneal.

Kapillarentnahmen: Nach 3 Std.: Sehr wenige Leukozyten, ziemlich viele Bazillen.

Nach 5 Std.: Sehr wenige Leukozyten, sehr viele Bazillen.

Nach 7 Std.: Sehr wenige Leukozyten, sehr zahlreiche Bazillen. Tier sehr krank. Stirbt 12 Stunden nach der Infektion mit 5 ccm zellarmen, mit Bazillen angefüllten Peritonealexsudats und spärlichen, bazillenreichen Auflagerungen.

**III. Versuch (Aggressin von M VII).**

M. VIII von 160 g Gewicht bekommt $^1/_{40}$ Öse Koli in 4 ccm Kochsalzlösung intraperitoneal.

Kapillarentnahme nach 3 Std.: Viele Leukozyten, Bazillen vorhanden.

Stirbt nach 26 Std. mit vielen Auflagerungen und wenigen Tropfen Exsudats. Mäfsiger Bazillengehalt, viele Phagozyten.

M. IX, von 160 g, bekommt $^1/_{40}$ Öse Koli in 4 ccm Aggressin intraperitoneal.

Kapillarentnahme nach 3 Std.: Tier sehr krank. Massenhafte Bazillen, im Tropfen ein einziges Leukozytenklümpchen.

Stirbt nach 13 Std. mit 3 ccm Exsudat, darin massenhafte Bazillen, wenige Leukozyten.

Auch hier überlebt das Kontrolltier um 13 Stunden und geht unter den Erscheinungen der leichteren Infektion zugrunde als das Aggressintier. Aber es stirbt schliefslich auch das Kontrolltier, weil die angewandte Dosis für das kleine Tier nicht mehr untertödlich ist.

**IV. Versuch (Aggressin von M X).**

M. XI, 135 g, bekommt $^1/_{40}$ Öse Koli in 4 ccm Kochsalzlösung intraperitoneal.

---

1) Ein Teil der Versuche ist in der Wiener klin. Wochenschrift, 1905, Nr. 25, mitgeteilt.

2) Die Verteilung der Bazillen für die Kontrolltiere in normalem Serum ändert nichts an den Resultaten.

Kapillarentnahme nach 4 Std.: Massenhafte Leukozyten, keine Bazillen; dauernd gesund.

M. XII, 150 g, bekommt $^1/_{60}$ Öse Koli in $2^1/_2$ ccm Aggressin + $1^1/_2$ ccm Kochsalzlösung.

Kapillarentnahme nach 4 Std.: Wenige Leukozyten, spärliche Bazillen.

Stirbt nach 15 Std. mit subkutanem Ödem; massenhafte Bazillen in dem $1^1/_2$ ccm Peritonealexsudat und den wenigen Anflagerungen.

Aus diesen Versuchen geht hervor, dafs dem Kolibazillus in hohem Mafse die Fähigkeit zukommt, sein Haften im Tierkörper durch Aggressinproduktion zu erzwingen; dabei werden untertödliche Mengen zu tödlichen und der Befund der leichteren Infektion zu dem der schweren. Ein Eindringen in die Blutbahn erfolgt nicht, vielmehr reiht sich der Kolibazillus den Halbparasiten im Sinne Bails an, die sich nur bis zu einem gewissen Grade lokal vermehren und dann augenscheinlich durch Gift töten. Auch ist bei ihnen nicht wie bei den Parasiten die Infektionsstelle gleichgültig. Erwähnt sei hier, dafs sich die intraperitoneale Infektion der hier genannten Mengen des blofsen Aggressins für Tiere gleicher Gröfse unschädlich erwies.

Es war nun zu prüfen, ob man die Tiere mit dem blofsen Aggressin auch immunisieren könne, zunächst aktiv. Zu diesem Zwecke wurden kleine Meerschweinchen mit sterilem Aggressin einmal oder mehrmals und dann in steigenden Dosen und entsprechenden Intervallen subkutan injiziert. Zunächst ergab sich, dafs es notwendig sei, mindestens 14 Tage, besser noch 3 Wochen nach der letzten Injektion zu warten, ehe man die Tiere infizierte. Nach 10 Tagen war mitunter bereits ein genügender Schutz vorhanden, doch gingen mehrere Tiere nach der Infektion höherer Multipla der tödlichen Dosis zugrunde, offenbar weil noch nicht alles Aggressin verarbeitet war. Wurde jedoch 3 Wochen lang gewartet, dann erwies sich die einmalige Injektion von 2 bis 2,5 ccm völlig ausreichend, um gegen 20—40fache tödliche Dosen der Kulturbazillen sicher zu schützen. In den so aktiv immunen Tieren ist den Bakterien durch den antiaggressiven Zustand jede Vermehrungsfähigkeit benommen, und die injizierten Mengen liefern nicht genug Gift, um die Tiere zu töten, die mitunter

vorübergehend krank werden. Da eine Giftimmunität nicht erzielt wird, würden derartige Tiere ohne Zweifel zugrunde gehen, wenn man ihnen solche Bazillenmengen injizieren würde, welche, als Gift genommen, zum Tode ausreichen.

### V. Versuch.

M., 180 g, vorbehandelt mit 1 nnd nach 15 Tagen mit 2 ccm Aggressin subkutan. Injiziert 1 Öse Koli in 5 ccm Kochsalzlösung intraperitoneal.

Nach 4 Std.: Voll Leukozyten, keine Bazillen.

» 7 » Vollkommen gesund; bleibt es dauernd.

M., 230 g, (Kontroll) bekommt 1 Öse Koli in 5 ccm Kochsalzlösnng.

Nach 4 Std.: Keine Lenkozyten, Bazillen vermehrt.

» 7 » Sehr krank, voll Bazillen.

Früh tot. Schwere Infektion.

### VI. Versuch.

M., 250 g, vorbehandelt mit 1 + 2 ccm Aggressin snbkutan, bekommt intraperitoneal 1 Öse Koli.

Nach 10 Min.: Zahlreiche, einzelliegende Lenkozyten, keine Bazillen, keine Grannla.

» 2 Std.: Tropfen voll Leukozyten, keine Bazillen.

Bleibt danernd gesund.

M., 250 g, (Kontroll) 1 Öse Koli intraperitoneal.

Nach 10 Min.: Bazillen, der injizierten Menge entsprechend.

» 2 Std.: Voll Bazillen, keine Leukozyten.

Nächsten Morgen tot. Schwerste Infektion.

### VII. Versuch.

M., 285 g, subkutan einmal mit 2,5 ccm Aggressin vorbehandelt, bekommt 0,5 Ösen Koli in 2,5 ccm Kochsalzlösung.

Nach 10 Min.: Bazillenmenge, der injizierten Menge entsprechend; Auftreten von Lymphozyten.

» 30 » Bazillen bis auf wenige verschwunden. Sehr spärliche Leukozyten. Keine Grannla.

Im weiteren Verlaufe verschwinden die Bazillen gänzlich, es treten Leukozyten auf, das Tier bleibt gesund.

M., 190 g, (Kontroll) bekommt 0,25 Ösen Koli in 1,25 ccm Flüssigkeit.

Entnahme nach $^3/_4$ Std.: Zahlreiche Bazillen nnd viele Lenkozyten. Am Morgen tot mit den Zeichen ziemlich schwerer Infektion.

### VIII. Versuch.

Um die Spezifität dieser aktiven Koliimmunität zu prüfen, wurden zwei weitere Immuntiere, welche mit dem im Versuch VII verwendeten gleichzeitig mit 2 resp. $2^1/_2$ ccm Aggressin immunisiert worden waren, nnd auch

das gleiche Gewicht annähernd hatten, mit Streptokokkus Paris und Cholera M. injiziert.

M., 285 g, mit 2 ccm Koliaggressin aktiv immunisiert, bekommt 3 Uhr nachmittags die $2^1/_2$fach tödliche Dosis des Streptokokkus Paris ($^1/_4$ ccm 24 stünd. Bouillonkultur intraperitoneal).

Nach 4 Std. nicht sehr krank, im Kapillartropfen Leukozyten ziemlich viel, zahlreiche Kettenkokken und Diplokokken.

Früh tot mit sehr wenig Exsudat; leichtere Infektion.

M., 280 g, mit 2,5 ccm Koliaggressin vorbehandelt, bekommt 3 Uhr nachmittags 5fache tödliche Dosis Cholera M. (2 Ösen) intraperitoneal.

Nach 4 Std.: Tier schwer krank, Kapillartropfen voll Bazillen. Früh tot, schwerste Infektion.

Es hatte sich sonach die aktive Koli-Aggressinimmunität, welche die Tiere die 40fache tödliche Dosis von Kolikulturbazillen vertragen läfst, gegenüber Streptokokken und Cholera als spezifisch erwiesen.

Weniger günstige Resultate wurden mit der passiven Immunisierung erhalten, welche allerdings bisher an einem einzigen Kaninchen geprüft wurde. Es sei aus den diesbezüglichen Versuchen nur kurz erwähnt, dafs 1 ccm des Serums (nach dreimaliger Injektion des Kaninchens [11 ccm agg. subkut.] gewonnen) — am Tage zuvor Meerschweinchen injiziert — gegen die 10—20fache tödliche Kolidosis schützte. Als ich jedoch während der Ferien mehrere Wochen nicht weiteres Aggressin injizierte, war der Schutzwert des Serums fast verschwunden. Jedenfalls stellt sich der Kolibazillus auch mit der aktiven Immunität durch Aggressin in die Reihen der pathogenen Mikroorganismen.

### Die Beziehungen zum Typhusbazillus.

Durch den glücklichen Weg, welchen Gaffky[1]) einschlug, indem er bei seinen ätiologischen Typhusforschungen nicht vom Darme, sondern von Lymphdrüsen und Milz der Typhusleichen ausging, konnte es geschehen, dafs der weit seltenere Typhuserreger früher bekannt wurde als der stets im Darme vorhandene Koli-

1) Gaffky, Zur Ätiologie des Abdominaltyphus. II. Bd. der Mitteil. aus dem Kaiserl. Gesnndheitsamte, S. 372 ff.

bazillus. Nach Entdeckung des letzteren zeigte sich die Unmöglichkeit, die beiden nach morphologischen Merkmalen auseinander zu halten. Hätte Gaffky nicht das differente Wachstum auf der Kartoffel hervorgehoben, dann wüfsten wir heute nicht, ob er Typhus- oder Kolibakterien in der Hand gehabt habe. Man sah sich genötigt, auf eine botanische Sonderung der beiden und einiger ähnlichen Bakterien zu verzichten und sie lieber, da aus ätiologischen Gründen die Trennung wünschenswert erschien, auf Grund physiologischer Unterscheidungsmerkmale zu »gruppieren«. Als solche Unterscheidungsmerkmale wurde die Vergärung von Zuckerarten, die Milchkoagulation, überhaupt die Säuerung kohlehydrathaltiger Substrate und die Indolbildung in proteinhaltigen Nährlösungen verwendet, dann das üppigere Wachstum auf der Kartoffel. Alle diese Eigenschaften fanden sich im positiven Sinne beim Kolibazillus vor, nur die Beweglichkeit soll beim Typhusbakterium eine gröfsere sein, eine Angabe, welcher die Messungen der Geschwindigkeit beider Mikroben durch Gabritschevsky widersprechen.

Schon zu Anfang der neunziger Jahre trat die Lyoner Schule, mit Rodet und G. Roux[1]) an der Spitze, für die Identität des Bact. typhi und des Kolibazillus ein. Sie wiesen darauf hin, dafs man in typhusverdächtigem Wasser nur äufserst selten Typhus-, dagegen sehr oft Kolibazillen vorfinde; nach Vallet[2]) sollte die »Viruleszierung« des Koli durch den Aufenthalt in Kloakenjauche so weit gehen, dafs es dann befähigt werden sollte, beim Menschen Typhus zu erzeugen. Sie betonten weiter, dafs die Artbestimmung in der Bakteriologie sehr schwer sei, weil es innerhalb einer Art die mannigfachsten Variationen im chemischen und biologischen Verhalten gebe. So seien Typhus- und Kolibazillus in bezug

1) G. Roux et Rodet: Colibacille et bacille d'Eberth (Le bulletin méd. 1892, Nr. 39. — Rodet A. et Roux G.: Bacille d'Eberth et bacillus coli. Expériences comparatives sur quelques effets pathogènes. Arch. de méd. expér. et anat. pathol., T. IV. Nr. 3. — Rodet A.: De la variabilité dans les microbes au point de vue, morphologique et physiologique, 1895 (Zentralbl. f. Bakt. 18, S. 498 ff.).

2) Vallet, Le bac. d'Eberth et l'étiologie de la fièvre typhoide. Thèse de Lyon, 1890.

auf die experimentelle Infektion nicht scharf zu trennen; vor allem aber glaubten die französischen Autoren ihren Standpunkt damit begründen zu können, dafs es ihnen gelungen sei, den Kolibazillus »eberthiform« zu machen, d. h. durch Alter, Erwärmen, Zusatz von Antisepticis zu den Kulturen eine Anzahl intermediärer Formen zu erzeugen, welche z. B. Milchzucker nicht zu vergären vermochten und die aktiven Kolieigenschaften in so abgeschwächter Weise darboten, dafs sie sich den Typhusbazillen erheblich näherten.

Diesen Anschauungen, welche auch von Arloing[1]) auf dem VII. internationalen Kongrefs zu London vertreten wurden, kann man zwar mit Villinger[2]) entgegenhalten, dafs es sich nur um eine Verkümmerung der aktiven Kolieigenschaften durch künstliche Mittel gehandelt habe; aber seither hat die Natur vielfach die Arbeiten der Lyoner wieder in Erinnerung gebracht, indem eine nahezu lückenlose Reihe erkannt wurde, an deren beiden Enden das typische Typhus- und Kolibakterium stehen, und bei denen man wohl nicht an eine Verkümmerung denken kann. So stehen die Paratyphusbazillen sicher dem Typhusbakterium näher als dem Kolibazillus, wenigstens in bezug auf ihre Pathogenität, denn klinisch und anatomisch erzeugen sie denn doch nur Abdominaltyphus; sie vergären aber Traubenzucker, und damit ist der Wert dieses Unterscheidungsmittels für die pathologische Mykologie erheblich gesunken. Und so geht es mit den anderen Unterscheidungsmerkmalen auch, wir kennen Kolistämme (Lembke, Matzuschita)[3]) die kein Indol bilden, und dem Typhus sehr nahe stehende Bazillen (Dysenterie), die unbeweglich sind; die Colibazillen färben den Drigalski-Conradi-Agar rot, die Typhusbazillen lassen ihn blau, während sich nach H. Kayser[4]) mehrere, der Koligruppe angehörige intermediäre Stämme zur Säuerung

1) Arloing, Zentralbl. f. Bakt., 11, S. 120, 121. VII. internat. Kongrefs zu London.

2) Villinger, Über die Veränderung einiger Lebenseigenschaften des B. coli commune durch äufsere Einflüsse. Archiv f. Hyg., 1894, Bd. 21, S. 101 ff.

3) Matzuschita, Archiv f. Hyg., 41, 3.

4) H. Kayser, Zentralbl. f. Bakt., 1902, I. Abt., Bd. 31, Nr. 9.

dieses Substrates genau so verhalten wie der Typhusbazillus. Immer gröfser wird der Apparat, den wir in Bewegung setzen müssen, wenn wir eine Entscheidung treffen sollen, ob ein vorliegender Mikrobe als Typhuserreger anzusprechen sei und diese Ängstlichkeit, dieses nicht Genugtuenkönnen an Differenzierungsmitteln ist an sich schon ein beredtes Zeugnis dafür, wie wenig wir im Innern von der totalen Verschiedenheit beider Organismen überzeugt sind. Treffend hat neuerlich E. Krencker[1]) seine Resultate, wie folgt, zusammengefafst: Es zeigt sich, dafs wir gerade in dem Bestreben, durch Prüfung des Wachstums auf verschiedenen Nährböden, durch neue Reaktionen etc. tiefere Unterscheidungsmerkmale zu finden und so die einzelnen Arten strenger voneinander zu trennen, zu dem entgegengesetzten Resultate gelangt sind«. Am weitesten geht Tarchetti[2]), der die Anschauungen der Lyoner Schule wieder aufleben läfst und die Identität der beiden Organismen proklamiert. Nach ihm sollen sich die beiden Mikrobien, wenn sie gezwungen werden, durch längere Zeit auf gleichartigen Nährböden zu wachsen, in ihren sonst differenten Merkmalen auszugleichen streben, und im Tierkörper könne man differenzierte Formen in solche von intermediärem Charakter überführen. Es seien nur zartere und weniger entwickelte Koliformen mit mehr negativem Charakter, die man in einer bestimmten Krankheitsperiode durch besondere Methoden aus dem typhuskranken Menschen züchten kann und als bact. typhi bezeichnet, wobei zu dem besonderen Kulturverfahren die modifizierende Wirkung des erkrankten Organismus hinzukomme. »Dieses proteusartige Gebilde, welches in normalen Verhältnissen als harmloser Gast im Darme vegetiert, kann unter besonderen Bedingungen verminderter organischer Resistenz oder von gesteigerter Virulenz eine sowohl anatomisch als klinisch mannigfache Reihe von Krankheitszuständen hervorrufen und darunter auch das Typhusfieber«. Tarchettis Gedankengang würde so mancher Bakteriologe gern teilen, wenn ihn nicht die Möglichkeit der

1) E. Krencker, Zur Biologie der Typhus-Koligruppe. Zentralbl. für Bakt., 1905, H. 1, S. 14 ff.

2) Tarchetti C., Autoreferat. Zentralbl. f. Bakt., 1905, S. 307.

endogenen Typhusinfektion als logischer Schlufsforderung davon abhalten würde; nur um die bewährten prophylaktischen Mafsnahmen nicht zu gefährden, hält man solange als möglich an der Unterscheidung fest, aber viele Bakteriologen werden zugeben, dafs die Trennungsbestrebungen die Annäherung nur befördern.[1]) Die ganze Literatur, welche man hierfür heranziehen könnte, zu erwähnen, würde viel zu weit führen.

Besonderes Interesse für die folgenden Untersuchungsresultate bietet der Streit um die sog. »biologische Aquivalenz«. Um das Jahr 1893 hatten fast gleichzeitig Sanarelli[2]), Cesaris Demel und Orlandi und Agro gefunden, dafs man Meerschweinchen, die gegen Kolibakterien immunisiert waren, tödliche Mengen von Typhusbakterien einimpfen könne, ohne die Tiere wesentlich zu gefährden und auch umgekehrt. Sonach bestehe eine Äquivalenz der »Stoffwechsel- und Reaktionsprodukte« beider Bakterien. Sie hatten nur die einfach tödlichen Dosen verwendet. Ihnen widersprach Neisser[3]), dessen Versuche an Mäusen lehrten, dafs die gegen die 10 bis 20fache tödliche Dosis von Typhusbazillen immunisierten Tiere nicht geschützt erscheinen gegen die 2 bis 4fache tödliche Kolidosis und meist auch umgekehrt. In gröfserem Mafsstabe und unter Benutzung der passiven Immunität haben Löffler und Abel[4]) diese Versuche wieder aufgenommen; sie immunisierten Hunde gegen Typhus und Koli und schützten mit diesem Serum Meerschweinchen, wobei sie folgende Resultate bekamen: Die Sera zeigten eine spezifische

1) Porcile (Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., 1903, Bd. 50) und Zupnik (Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., 1905, Bd. 49) nahmen in der spezifischen Agglntination ein Trennungsmittel für die znm Typhus- oder Kolibazillns zugehörigen Bakterien an. Letzterer, der diese Anschannng anf Grnnd ansgedebnter Untersuchnngen verficht, will bei den »Grenzarten« lieber die differente Indolbildung, Säuerung etc., als nntergeordnete, nicht spezifische Unterschiede ansehen.

2) Sanarelli, Études sur la fièvre typhoide expérimentale. Annales Pasteur, 1894, Bd. VIII, p. 224.

3) E. Neisser, Untersuchungen über den Typhusbazillns nnd das Bact. coli commune. Zeitschr. f. klin. Mediz., 1893, p. 93.

4) F. Löffler nnd R. Abel, Über die spezifischen Eigenschaften der Schntzkörper im Blute typhus- und koliimmuner Tiere. Zentralbl. f. Bakt., 1896, I, 19, S. 51—70.

Schutzwirkung nur gegenüber derjenigen Bakterienart, welcher sie ihre Entstehung verdankten. Gewöhnliches Serum nicht vorbehandelter Tiere zeigt eine schützende Wirkung gegen die tödlichen Dosen von Typhus und Kolibakterien und auch gegen niedrige Multipla derselben. Das Typhusserum schützte gegen eine etwas höhere Dosis von Kolibakterien, wie normales Serum, und ebenso das Koliserum gegen eine etwas höhere Dosis von Typhusbakterien, wie normales Serum. In dem etwas erhöhten Schutz kommt gewissermafsen die Familienverwandtschaft beider Bakterienarten zum Ausdruck. Auf die Angaben von Löffler und Abel beruft sich auch Zupnik (l. c.) bei Aufstellung der »Antitoxine« als spezifischer Familienreaktion; während aber L. u. A. ausdrücklich aus ihren Versuchen auf das Fehlen eines spezifischen Schutzes der Typhussera gegen Koli und umgekehrt schliefsen (das kouventionelle Mafs spezifischen Schutzes offenbar in der 10fach tödlichen Dosis erblickend), deutet Zupnik ihre Versuche dahin, dafs eine spezifische, wenn auch geringe Schutzwirkung bestehe. — So bleibt die Frage der biologischen Äquivalenz der bakteriziden Immunsera noch immer strittig.

## Eigene Versuche.

### I. Reziprozität der Aggressine.

M., 260 g, bekommt $^1/_{40}$ Öse Typhus in 3 ccm Kochsalzlösung intraperitoneal.

Entnahme nach 3 Std.: Reichliche Leukozyten, fast keine Bazillen.
» » 5 » » » » » »
» » 7 » Leukozyten in Abnahme, nur ganz vereinz. Bazillen.

Bleibt danernd gesund.

M., 285 g, bekommt $^1/_{40}$ Öse Typhus in 3 ccm Koliaggressin intraperitoneal.

Entnahme nach 3 Std.: Mäfsiger Leukozytengehalt, ziemlich viele Bazillen.
» » 5 » Ziemlich viele Leukozyten, ziemlich viele Bazillen.
» » 7 » Viele Leukozyten, ziemlich viele Bazillen.

Stirbt ca. 30 Std. post infect. mit beträchtlichen, aus vielen Bazillen und wenigen Zellen bestehenden Anflagernngen. Wenige Tropfen bazillenreichen Exsudats mit mäfsigem Leukozytengehalt.

### II. Versuch.

M., 150 g, bekommt $^1/_{40}$ Öse Typhus in 4 ccm physiol. Kochsalzlösung intraperitoneal.

Nach 3 Std.: Reichliche Leukozyten, wenige Bazillen.

Bleibt dauernd gesund.

M., 150 g, bekommt $^1/_{40}$ Öse Typhus in 4 ccm aggressiven Koliexsudats intraperitoneal.

Nach 3 Std.: Recht mäfsigen Leukozyten- und Bazillengehalt.

Stirbt nach 40 Std.: Im Exsudat viele Bazillen, doch auch ziemlich viele Leukozyten.

### III. Versuch.

M., 165 g, $^1/_{40}$ Öse Typhus in 4 ccm Kochsalzlösung intraperitoneal.

Nach 4 Std.: Viele Leukozyten, wenige Bazillen.

Bleibt dauernd gesund.

M., 180 g, $^1/_{40}$ Öse Typhus in $2^1/_2$ ccm Koliaggressin (mit Kochsalzlösung auf 4 ccm ergänzt).

Nach 4 Std.: Mäfsige Leukozyten, wenig Bazillen.

» 17 » Sehr krank, im Kapillartropfen zahllose Bazillen.

Stirbt nach 24 Std. mit 3 ccm bazillenreichen Exsudats und vielen Auflagerungen.

Da die obigen 3 Versuche übereinstimmend gezeigt hatten, dafs das Koliaggressin auch dem Typhusbazillus das Festsetzen und Auswachsen im Tierkörper zur tödlichen Dosis ermögliche, wurde nunmehr der umgekehrte Versuch gemacht.

### IV. Versuch.

M., 600 g, bekommt intraperitoneal eine Typhusagarkultur und 1 Bouillonkultur. Stirbt mit 7 ccm zellarmen, bazillenreichen Exsudats.

Exsudat zentrifugiert, sterilisiert mit Toluol.

| | M. 175 g bek. $^1/_{40}$ Öse Typhus in $2^1/_2$ ccm Kochsalzlösung | M. 190 g bek. $^1/_{40}$ Öse Typhus in $2^1/_2$ ccm Typhusaggressin ($12^1/_2$ Uhr mittags) | M. 175 g bek. $^1/_{60}$ Öse Koli in $2^1/_2$ ccm Kochsalzlösung | M. 180 g bek. $^1/_{60}$ Öse Koli in $2^1/_2$ ccm Typhusaggressin |
|---|---|---|---|---|
| Nach $6^1/_2$ Std. | Reichlich Leukozyten, nur ganz vereinzelte Baz. | Viele Leukozyten, viele Bazillen. Krank | Reichlich Leukozyten, nur ganz vereinzelte Baz. | Wenige verklumpte Leukozyten, reichliche Bazillen. Sehr krank |
| Nach 18 Std. | Dauernd gesund | Über Nacht gestorben. Im Exsudat fast nichts als Bazillen. Nahezu keine Auflagerungen | Dauernd gesund | Über Nacht gestorben. Im Exsudat fast nur Bazillen. Nahezu keine Auflagerungen. Exsudat auf Drigalskinährboden geprüft, nur Koli aufgegangen. |

Während Typhusaggressin für Choleravibrionen, Choleraaggressin für Dysenteriebazillen unwirksam ist, besteht in dieser Hinsicht zwischen Typhus und Koli eine vollständige Reziprozität.

**II. Schutzwirkung, mit Koliaggressin gegen Typhus erlangt.**

Wie wir bereits gesehen haben, gelingt es, Tiere durch einmalige Injektion von 2, 2½ ccm sterilen Koliaggressins gegen multipla bis zur 40fachen tödlichen Kolidosis zu schützen. Es wurde nun geprüft, wie sich derartige Tiere gegen die Typhusinfektion verhielten.[1])

**I. Versuch.**

M., 360 g, vorbehandelt durch zweimalige Injektion von Koliaggressin (1 und 2 ccm subkutan), bekommt 1 Öse Typhus intraperitoneal (mittags).

Nach 3 Std.: Reichlich Leukozyten, keine Bazillen.

Bleibt dauernd gesund.

M., 415 g, (Kontrolle) bekommt 1 Öse Typhus intraperitoneal.

Nach 3 Std.: Keine Leukozyten, massenhafte Bazillen.

» 7 » Bazillen sehr zahlreich.

Ist früh tot. Ziemlich viele, mäßig zellhaltige, sehr bazillenreiche Auflagerungen.

Während also bei dem kleineren Immuntiere die schwere Infektion bereits nach 3 Std. abgelaufen war, ging das größere Kontrolltier daran unter den Zeichen ziemlich schwerer Infektion zugrunde (in max. 20 Std.).

**II. Versuch.**

M., 235 g, einmal vorbehandelt mit 2,5 ccm Koliaggressin, bekommt $^{10}/_{6}$ Ösen Typhus intraperitoneal.

Nach 3 Std.: Kapillare voll Leukozyten, keine Bazillen. Das Tier bleibt dauernd gesund.

M., 255 g, bekommt $^{8}/_{6}$ Ösen Typhus.

Nach 3 Std.: Massenhafte Bazillen, wenige Leukozyten.

» 8 » Morihund. Früh tot.

**III. Versuch.**

M., 285 g, einmal mit 2 ccm Koliaggressin subkutan immunisiert, bekommt 0,75 Ösen Typhus intraperitoneal.

Nach 10 Min. Viele Bazillen, Lymphozyten.

» 30 » Leukozyten vereinzelt, Bazillen sehr spärlich.

» 40 » Beginnendes Zuströmen von Leukozyten, keine Granula, einzelne Bazillen nur mit Mühe auffindbar. Das Tier wird getötet (siehe später).

1) Die Versuche sind mit Kulturbazillen, nicht mit tierischen Bazillen angestellt, da praktische Ziele nicht verfolgt wurden.

M., 200 g, (Kontroll) bekommt 0,375 Ösen Typhus intraperitoneal.
Nach 45 Min.: Sehr viele Bazillen, sehr viele, zu Klumpen geballte Leukozyten. Früh tot.

Aus diesen Versuchen erhellt, dafs der Schutz, welchen aktiv mit Koliaggressin immunisierte Tiere gegen Typhusbakterien besitzen, ihrem Schutze gegen Koliinfektion nichts nachgibt.

Bezüglich des passiven Schutzes ist dasselbe zu sagen wie beim Kolibazillus. Der Schutz ist ein mäfsiger, langt bei tags zuvor erfolgter Injektion von 1 ccm Kaninchenserum annähernd gegen die 10—12fach tödliche Typhusdosis aus.

Zum Beispiel:

M., 120 g, bekommt 1 ccm Kaninchenserum subkutan. Tags darauf, 6 Uhr abends, $^1/_2$ Öse Typhus intraperitoneal.
Nach 2 Std.: Bauchhöhle voll Eiter, sehr wenige Bazillen. Bleibt dauernd gesund.
M., 135 g, (Kontroll) bekommt $^1/_2$ Öse Typhus intraperitoneal.
Nach 2 Std.: Mäfsige Bazillen, nur einzelne Leukozyten.
Früh tot, ohne Eiter in der Bauchhöhle mit bazillenreichem Exsudat.

Aber die Versuche waren nicht zahlreich genug und die Immunisierung nicht hoch genug beim Kaninchen getrieben; auch war, wie erwähnt, die Schutzkraft des Kaninchenserums nach einer aus äufseren Gründen eingetretenen längeren Pause in der Immunisierung sehr gesunken, so dafs wir vorläufig nur das eine sichere Resultat verzeichnen wollen, dafs es viel schwerer erscheint, mit Koliaggressin wirksame passive als aktive Immunität zu erzielen. Erwähnt sei noch, dafs ein Versuch mit normalem Kaninchenserum, tags zuvor in der Menge von 1 ccm einverleibt, keinen Einflufs auf den tödlichen Ablauf der Infektion eines Meerschweinchens mit 0,5 Ösen Typhus hatte.

## Zum Wesen der Aggressinimmunität.

Sehr wünschenswert erschien es, einen Einblick in das Wesen dieser eigenartigen Immunität zu erlangen, zumal bei den Kapillarentnahmen niemals etwas von Granulis in der freien Peritonealflüssigkeit zu sehen war, die doch im Falle einer bakteriziden Immunität nicht hätten fehlen dürfen. Es war sehr interessant zu beobachten, dafs man manchmal bereits bei der

ersten Entnahme aus der Bauchhöhle des aktiv immunen Tieres den Tropfen voll Leukozyten fand und die Bazillen bereits verschwunden waren. Man mufste sich sagen, dafs man da zur Beobachtung des ganzen Vorgangs schon zu spät gekommen sei. Wo aber waren die Bazillen hingekommen? War eine so rapide Bakteriolyse erfolgt, dafs schon nach 10 Minuten alle Spuren der aufgelösten Bakterien verschwunden waren? Dem widersprachen die negativen Befunde bei den protrahierteren Fällen. Eine günstige Gelegenheit bot der bei Typhus erwähnte Versuch III. Das Tier, welches bereits mit Sicherheit als gerettet gelten konnte, wurde in dem Momente getötet, als die Bazillen so gut wie vollständig aus der freien Flüssigkeit im Peritonealsack verschwunden waren, während die Leukozyten erst zuzuströmen begannen. Es fand sich in der Bauchhöhle 1 ccm einer leicht hämorrhagischen Flüssigkeit, in welcher man mikroskopisch nur bei langem Suchen einzelne Bazillen nachweisen konnte, in Organausstrichen, namentlich im Milzausstrich, keine Bazillen. Dagegen war das Netz mit einem leicht erhabenen grauweifsen, unebenen Überzuge bedeckt, der ausgestrichen und gefärbt, aus einer grofsen Zahl von Phagozyten bestand, welche mit Bazillen und Granulis vollgestopft waren und in deren Zwischenräumen überall zahlreiche Bazillen lagen. In diesem Stadium waren also die Bazillen nicht verschwunden, man konnte ruhig sagen, dafs sie alle am Netze wiedergefunden wurden. Es konnte also durch den Augenschein der Vorgang nachgewiesen werden, den Kikuchi (l. c.) in ähnlicher Weise bereits vermutet hatte. So, wie sich bei intraperitonealer Injektion das Netz verhält, dürften sich bei Injektionen an anderem Orte die lokalen serösen Häute verhalten.

Es wurde weiterhin das Blutserum dieses Tieres in bezug auf seinen Gehalt an Bacteriolysinen und Agglutininen geprüft.

Agglutination für Typhus: 1:25 . . . . ⊖, für Koli . . ⊖,
1:50 . . . . ⊖, . . . . . ⊖,
1:100 . . . . ⊖, . . . . . ⊖,
1:500 . . . . ⊖, . . . . . ⊖,
1:1000 . . . . ⊖, . . . . . ⊖.

Bakterizider Versuch:

| Einsaat je ca. 10000 Coli | Nach 4 Std. |
|---|---|
| 0,75 Peptonkochs.-Lös. + 0,25 norm. Kan.-Ser. | ∞ |
| 0,65 » + 0,0001 Immunser. in 0,1 Kochs. + 0,25 norm. Kan.-Ser. | ∞ |
| 0,65 » + 0,001 » » 0,1 » + 0,25 » | ∞ |
| 0,65 » + 0,01 » » 0,1 » + 0,25 » | ∞ |
| 0,65 » + 0,05 » » 0,05 » + 0,25 » | ∞ |
| 0,65 » + 0,1 » . . . . . + 0,25 » | ∞ |

| Einsaat je ca. 10000 Typhus | Nach 4 Std. |
|---|---|
| 0,75 Peptonkochs.-Lös. + 0,25 norm. Kan.-Ser. | ∞ |
| 0,65 » + 0,0001 Immunser. in 0,1 Kochs. + 0,25 norm. Kan.-Ser. | ∞ |
| 0,65 » + 0,001 » » 0,1 » + 0,25 » | ∞ |
| 0,65 » + 0,01 » » 0,1 » + 0,25 » | ∞ |
| 0,65 » + 0,05 » » 0,05 » + 0,25 » | ∞ |
| 0,65 » + 0,1 » . . . . . + 0,25 » | ∞ |

Das Serum des Tieres, welches gegen Typhus (und sicher auch gegen Koli) hohen Schutz besafs, zeigte also für beide Mikroben weder eine Spur von Bakterizidie, noch von Agglutination.

Interessant war auch das Verhalten des Kaninchenserums in bezug auf die Agglutination zu einer Zeit, wo es passiven Schutz gegen die 10—12 fach tötliche Dosis von Koli resp. Typhus (in der Menge von 1 ccm) geboten hatte.

| Für Koli: | | Für Typhus: | | |
|---|---|---|---|---|
| 1:10 | ++ | 1:10 | — | |
| 1:20 | ++ | 1:20 | — | |
| 1:50 | ++ | 1:50 | — | ⊖ |
| 1:100 | + | 1:100 | — | |
| 1:500 | ± | 1:500 | — | |
| (nach mehreren Stund., inkompl.) | | | | |

Das Serum, welches gegen beide Mikroben den gleichen Schutz verleiht, zeigt mäfsige Agglutinationswerte nur für den einen, mit dem es erzeugt ist. Es ist also weder die Agglutination in einem konstanten, noch anscheinend die Bakterizidie in irgendeinem Verhältnisse zur antiaggressiven Immunität.

Bekanntlich haben Wassermann und Citron[1]) mit Bakterienextrakten, welche aus Massenkulturen durch ein eingreifendes Verfahren gewonnen waren, eine ähnliche, wenn auch anscheinend minder intensive Beförderung der Infektiosität zu erzielen vermocht. Sie nennen daher ihre Extrakte »Künstliche Aggressine« und glauben, dafs man der kostspieligen, natürlichen Aggressine bei der Immunisierung sicher entbehren könne. Aber jetzt schon sprechen unsere obigen Versuche gegen die Identität der »Künstlichen Aggressine« mit den natürlichen. Denn erstere sollen nach Wassermann und Citron die Schutzkräfte (also wohl die bakteriziden) des Organismus binden. Dann mufs die Immunität darin bestehen, dafs diese Bindung aufgehoben wird und die Schutzkräfte wieder frei werden. In den obigen Versuchen sah man nie Granulabildung; das Serum des letzterwähnten Tieres zeigte keine Spur von Bakterizidie, und man fand alle Bazillen am Netze wieder, in der Gewalt der Phagozyten.

## Schlufssätze.

1. Die sterilen, an sich ungiftigen Exsudate von durch Kolibazillen getöteten Tieren enthalten ein spezifisches Aggressin, welches, mit untertödlichen Gaben der Kolibazillen injiziert, dieselben in tödliche verwandelt und — nach dem Sektionsbefunde — die leichtere Infektion in eine schwerere umändert.
2. Das Aggressin des Kolibazillus verhilft in gleichem Mafse auch dem Typhusbazillus zur Vermehrung im Tierkörper.
3. Auch das Typhusaggressin schützt nicht nur den Typhusbazillus, sondern in gleicher Weise auch den Kolibazillus vor der Vernichtung durch die Abwehrkräfte des Organismus.

1) Wassermann und Citron, Zur Frage der Bildung von bakteriellen Angriffsstoffen im lebenden Organismus. Deutsche med. Wochenschr., 1905, S. 1101.

4. Durch einmalige Injektion von 2—2½ ccm des ungiftigen und sterilen Aggressins kann man Meerschweinchen von mittlerer Gröfse bei einer Wartezeit von 2—3 Wochen gegen hohe Multipla der tödlichen Kolidosis aktiv schützen (30—40 f. Dosis).
5. Diese Immunität gilt in der gleichen Höhe auch gegen den Typhusbazillus, nicht gegen Choleravibrionen und Streptokokken. Wie sonach die Spezifität des Aggressins des Kolibazillus beim Typhusbazillus aufhört, ebenso verhält es sich mit der aktiven, antiaggressiven Immunität. Dadurch wird die nahe Verwandtschaft der beiden Mikroben durch neue biologische Beziehungen in ein besonders scharfes Licht gestellt. Denn hier handelt es sich um die Identität der Waffe, mit der sie die Haftung und Vermehrung im Tierkörper erzwingen.
6. Auch ein, allerdings bisher mäfsiger, passiver Schutz war zu konstatieren.
7. Die Aggressinimmunität beim Kolibazillus ist weder von konstanter Agglutininbildung, noch von bakteriziden Fähigkeiten des Blutserums begleitet. Sie ist vielmehr insofern eigenartig, als der antiaggressive Zustand eine Vermehrung der eingebrachten Bazillen im Tierkörper verhindert. Die Bazillen selbst werden im besonderen Falle der intraperitonealen Injektion rasch aus der Flüssigkeit ausgefällt und gelangen an das Netz, wo sie der phagozytären Tätigkeit der Leukozyten anheimfallen.

# Über die Fällungen von Eiweifs durch andere Kolloide und ihre Beziehungen zu den Immunkörperreaktionen.

Von

Dr. **Ulrich Friedemann,**

Assistent am Hygienischen Institut der Universität Berlin.

( Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med. Rat Prof. Dr. M. Ruhner.)

Das Studium der Kolloide hat bereits vielfache Aufschlüsse über die physikalisch-chemischen Vorgänge bei den Immunitätsreaktionen gegeben. Die Verbindungen der Immunkörper wurden mit den Adsorptionsverbindungen der Kolloide verglichen [Bordet[1]), Landsteiner und Jagic[2]), Biltz[3]), Zangger[4]), Biltz, Much und Siebert[5]), Pauli], während sich eine bemerkenswerte Ähnlichkeit zwischen den Fällungsreaktionen der Immunkörper (Agglutination und Präzipitation) und den Gelbildungen und Präzipitationserscheinungen in kolloidalen Lösungen und feinen Suspensionen herausstellte. (Bordet[6]), Bechhold,

1) Annales de l'Institut Pasteur, 1899, 1900, 1901.

2) Münchener med. Wochenschrift, 1903, Nr. 18.

3) Zeitschr. f. physik. Chemie, 48, S. 615.

4) Zentralblatt f. Bakt, Bd. 34, S. 428, Bd. 36, S. 161 u. 225. Korresp.-Blatt f. Schweizer Ärzte 1904, Nr. 3, pag. 5.

5) Behrings Beitr. z. experim. Therapie, 1905, Heft 10.

6) a. a. O.

M. Neifser und Verfasser[1]), Biltz[2]), Landsteiner und Jagic[2]), Henri und Mitarbeiter[4]), Gengon[5]).

Für eine weitere Durchführung dieser vergleichenden Untersuchungen bietet jedoch der Umstand grofse Schwierigkeiten, dafs die anorganischen Kolloide gegen Elektrolyte sehr empfindlich sind und daher gerade über die wichtige Rolle, welche die Salze bei den Immunitätsreaktionen spielen, keinen genügenden Aufschlufs geben. Aus diesem Grunde waren daher schon in früheren Untersuchungen von M. Neifser und Verfasser, Bechhold[6]) auch die stabileren eiweifsartigen Kolloide mit in den Kreis der Betrachtung gezogen worden, und es hatten sich namentlich bei den Fällungen zwischen Mastixemulsionen und Eiweifs (resp. Gelatine) bemerkenswerte Ähnlichkeiten mit der Bakterienagglutination gezeigt. Da die Fällungen zwischen anorganischen Kolloiden und Eiweifs bisher nicht in so eingehender Weise untersucht wurden, wie die der anorganischen Kolloide untereinander und die Resultate der verschiedenen Autoren auf diesem Gebiete widersprechende sind, so habe ich im folgenden diese Reaktionen einer systematischen Untersuchung unterzogen, wobei vor allem auf die Rolle der Salze geachtet wurde. Zum Schlufs wurde sodann auch das Verhalten der Immunitätsreaktionen in dieser Hinsicht einer nochmaligen Untersuchung unterworfen; doch glaube ich, dafs auch, abgesehen von diesem Zusammenhang, die Untersuchung der Kolloideiweifsfällungen für das theoretische Studium der Kolloide eine Ergänzung des bisher Bekannten liefert.

---

1) Versamml. deutscher Naturf. u. Ärzte, Kassel, 1903. — Münchener med. Wochenschr., 1904, Nr. 11 u. 19. — Zeitschr. f. phys. Chemie 48, S. 385.

2) Bericht d. d. chem. Gesellsch. (1904), 3138.

3) Wiener klin. Wochenschr., 1904, Nr. 3. — Münchener med. Wochenschrift, 1904, Nr. 27.

4) Soc. franç. de phys., 1904, 210. — Compt. rend. Soc. Biol., 1903, pag. 1613, Bd. 56, pag. 866, 931, 933, 935, 936, Bd. 57, pag. 33, 35, 38, 65, Bd. 57, pag. 866, 931, 933, 935, 936.

5) Annales de l'Institut Pasteur 1904.

6) a. a. O.

## I. Kolloideiweifsfällung.

### a) Versuche.

Eingehender haben sich wohl zuerst Landsteiner und Jagic[1]) mit der Kolloideiweifsfällung beschäftigt, welche fanden, dafs kolloidale Kieselsäure Eiweifs fällt, aber, wie sie meinten, nur in salzhaltiger Lösung. In weiteren Versuchen kamen sie dann zu dem Resultat, dafs positive und negative Kolloide Eiweifs fällen können, sofern sie als oxydartige Verbindungen saurer oder basischer Radikale aufgefafst werden können. Ferner beschäftigten sich Bilz, Much und Siebert[2]) mit dieser Frage und gelangten zu dem Schlufs, dafs positive Kolloide Eiweifs durchweg fällen, negative dagegen mit Ausnahme der Zinnsäure fast völlig versagten. Im Gegensatz dazu behauptet nun neuerdings Billitzer[3]), dafs Gelatine mit Arsentrisulfid (—) und Antimontrisulfid (—), nicht dagegen mit Eisenhydroxyd (+) Trübungen gibt. Bei meinen Untersuchungen diente als Eiweifs Blutserum oder Eieralbumin (Merk.), die durch mehrtägige Dialyse in fliefsendem Wasser salzfrei gemacht wurden. Um auszuschliefsen, dafs etwa noch ausfallende Globuline Störungen verursachen könnten, habe ich bei einem Teil der Versuche die Globuline durch Halbsättigung mit Ammonsulfat entfernt und dann dialysiert. Die Resultate waren im wesentlichen die gleichen. Von anorganischen Kolloiden kamen folgende zur Untersuchung: Zwei kolloidale Metalle, Platin (nach Bredig) (—) und Silber nach Carey Lea (—), zwei Sulfide, das Arsen- und Antimontrisulfid (—), zwei saure Oxyde, Kieselsäure (—) und Molybdänsäure (—), zwei basische Oxyde, Eisenoxyd (+) und Chromoxyd (+).

Das Resultat dieser Untersuchungen[4]) war, dafs die von mir untersuchten Eiweifskörper (Serum und Eiereiweifs) von allen zur Untersuchung herangezogenen anorga-

1) a. a. O.

2) a. a. O.

3) Zeitschr. f. physik. Chemie, Bd. 45 u. 51. Sitzung d. Kais. Akad. der Wissensch. in Wien vom 28. April 1904.

4) Das Ergebnis dieser Versuche wurde z. T. bereits in einem Vortrag in der Berl. Physiolog. Gesellschaft am 8. Dezember 1905 in Gemeinschaft mit Herrn Dr. Friedenthal mitgeteilt.

nischen Kolloiden, mögen dieselben elektropositiven oder elektronegativen Charakters sein, gefällt werden.

Es zeigte sich aber, dafs auch organische Kolloide, wie Histon, Nuklein, Nukleinsäure, Nukleohiston[1]), wie ja auch bereits von anderen Autoren beobachtet wurde, mit Eiweifs Fällungen gaben, so dafs man wohl ganz allgemein sagen kann, dafs Eiweifs mit allen Kolloiden sauren oder basischen Charakters fällt.

Die Differenz mit den Ergebnissen der anderen Forscher erklärt sich, wie ich glaube, daraus, dafs erstens auf eine Mischung in den richtigen Mengenverhältnissen nicht genügend Rücksicht genommen, ferner aber der Salzgehalt der Flüssigkeiten zu wenig beachtet wurde. Beide Faktoren sind aber von ausschlaggebender Bedeutung für den Ausfall des Versuches.

Denn in der Tat kann es aufserordentlich leicht vorkommen, dafs eine Fällung übersehen wird, da das Fällungsoptimum, wie die Tabellen zeigen, bei den verschiedenen Kolloiden bei ganz verschiedenen Mischungsverhältnissen liegt.

Ebenso wichtig ist es aber, mit salzfreien Eiweifslösungen zu arbeiten. Über den Einfluſs der Salze auf die Kolloideiweifsfällung bestehen auch bereits einige Angaben. So meinten Landsteiner und Jagic, dafs die Fällung von Serum durch kolloide Kieselsäure nur in Kochsalzlösung eintrete. Biltz, Much und Siebert machten keine Beobachtungen über die eigentliche Fällung in salzhaltiger Lösung, stellten aber fest, dafs Salzzusatz die Adsorption der Eiweifskörper durch anorganische Kolloide verhindere.

In Wirklichkeit liegen nun die Verhältnisse komplizierter, als die genannten Autoren annehmen. Es zeigte sich nämlich bei fast allen Kolloiden, dafs Salzzusatz die Eiweifsfällung sowohl befördern als auch hemmen kann. Der Erfolg hängt von den Mengenverhältnissen ab, in denen das Eiweifs und das anorganische Kolloid gemischt werden. Wie bei den Fällungen der anorganischen Kolloide untereinander, findet nämlich auch bei den Kolloideiweifsfällungen die Präzi-

1) In Versuchen, die Herr Dr. Friedenthal und Verf. ausgeführt haben, und die a. a. O. publiziert werden.

pitation nur bei einem ganz bestimmten Mischungsverhältnis statt. Sobald eine der Komponenten im Überschufs zugegen ist, bleibt die Fällung aus. Setzt man nun die gleiche Reihe unter Salzzusatz an (zu den Versuchen diente stets Na Cl), so beobachtet man, dafs die Fällungszone in salzfreier Lösung verschwindet, und dafs nunmehr an Stelle der bisherigen Hemmungszone Fällung eintritt.

In weiteren Versuchen habe ich auch die Salzmengen variiert, bin jedoch dabei nicht auf durchgehende Gesetzmäfsigkeiten gestofsen. Beim Chromhydroxyd (abfallende Mengen Chromoxyd bei konstanter Eiweifsmenge) beobachtete ich bei steigendem Salzzusatz ein Heraufrücken der Fällungszone, beim Eisenoxyd brachte aber eine weitere Erhöhung der Salzmenge keine Änderung hervor.

Ob dabei prinzipielle Unterschiede zwischen den einzelnen Kolloiden vorliegen, oder ob hier nur quantitative Verschiedenheiten bestehen, darüber müssen weitere Versuche entscheiden.

Es folgen nunmehr die Tabellen, welche die Versuchsresultate illustrieren.

### I. Chromhydroxyd.

Die benntzte etwa 3 proz. Eiereiweifslösung (in 100 ccm 0,5 g N) wurde, wie in den übrigen Versnchen, mehrere Tage dialysiert.

Tabelle I.

Abfallende Mengen Chromhydroxyd.

| Chrom-hydroxyd | Eiweifs | | + 2 Tropfen Na Cl 10% |
|---|---|---|---|
| 1 | 1 ccm | 0 | +++ |
| 0,5 | » | ++ | +++ |
| 0,25 | » | +++ | ++ |
| 0,1 | » | +++ | 0 |
| 0,05 | » | ++ | 0 |
| 0,025 | » | 0 | 0 |
| 0,01 | » | 0 | 0 |
| 0,005 | » | 0 | 0 |
| 0,0025 | » | 0 | 0 |

Kontrolle: Chromhydroxyd ist bei den angegebenen Salzkonzentrationen stabil.

Tabelle II.

Abfallende Mengen Eiweifs.

| Eiweifs | Chrom-hydroxyd | | + 2 Tropfen NaCl 10% |
|---|---|---|---|
| 1 | 0,1 ccm | +++ | 0 |
| 0,5 | » | +++ | 0 |
| 0,25 | » | +++ | 0 |
| 0,1 | » | Trübung | Trübung |
| 0,05 | » | 0 | Trübung |
| 0,025 | » | 0 | Trübung |
| 0,01 | » | 0 | 0 |
| 0,005 | » | 0 | 0 |
| 0,0025 | » | 0 | 0 |

Resultat: Im Überschufs von Chromhydroxyd bleibt die Fällung aus. Eiweifsüberschufs wurde nicht beobachtet.

Durch Salz wird die Fällung aufgehoben. Bei Überschufs von Chromhydroxyd wird durch Salz Fällung hervorgerufen. Besondere Versuche, von deren ausführlicher Wiedergabe hier abgesehen sei, ergaben, dafs die Verschiebung der Fällungskurve mit steigendem Salzzusatz zunimmt.

## II. Eisenhydroxyd.

Es kommt eine etwa 3proz. (in 100 ccm 0,5 g N) dialysierte Eiereiweifslösung in Anwendung.

Tabelle III.

Abfallende Eiweifsmengen.

| Eiweifs | Eisen-hydroxyd | | + 2 Tropfen NaCl 10% |
|---|---|---|---|
| 1 | 0,01 ccm | +++ | 0 |
| 0,5 | » | +++ | 0 |
| 0,25 | » | Trübung | 0 |
| 0,1 | » | 0 | 0 |
| 0,05 | » | 0 | 0 |
| 0,025 | » | 0 | 0 |
| 0,01 | » | +++ | Trübung |
| 0,005 | » | 0 | +++ sofortige |
| 0,0025 | » | 0 | +++ Fällung |

Ein Kontrollversuch mit 0,01 ccm Eisenhydroxyd in Kochsalzlösung allein ergibt erst nach etwa 24 Std. Fällung.

Tabelle IV.

Abfallende Eisenhydroxydmengen.

Die in diesem Versuch benutzte Eiweifslösung ist etwa 0,25 %, (in 100 ccm 0,04 g N).

| Eisen-hydroxyd | Eiweifs | | + 1 Tropfen NaCl 10 % |
|---|---|---|---|
| 1 | 1 ccm | 0 | + |
| 0,5 | » | 0 | ++ |
| 0,25 | » | 0 | +++ |
| 0,1 | » | 0 | +++ |
| 0,05 | » | 0 | +++ |
| 0,025 | » | Trübung | Trübung |
| 0,01 | » | Trübung | 0 |
| 0,005 | » | Trübung | 0 |
| 0,0025 | » | Trübung | 0 |

Kontrolle: Die konzentrierteren Eisenhydroxydlösungen werden bei dem angegebenen Salzgehalt während der Dauer des Versuchs noch nicht gefällt.

Resultat: Im Überschufs von Eiweifs und von Eisenhydroxyd unterbleibt die Fällung. Unregelmäfsige Reihen.

Die Fällung wird durch Salz aufgehoben, im Überschufs von Eisenoxyd tritt Fällung ein, im Überschufs von Eiweifs nicht.

## III. Kieselsäure.

Tabelle V.

Abfallende Eiweifsmengen. Eiereiweifslösung ca. 5 % (in 100 ccm 0,8 g N).

| Eiweifs | Kiesel-säure | | + 4 Tropfen NaCl 10 % |
|---|---|---|---|
| 1 | 0,025 ccm | +++ starker, | Trübung |
| 0,5 | » | +++ aber nicht flockiger Niederschlag | Trübung |
| 0,25 | » | Trübung | Trübung |
| 0,1 | » | Trübung | flockiger Niederschlag |
| 0,05 | » | 0 | » » |
| 0,025 | » | 0 | » » |
| 0,01 | » | 0 | » » |
| 0,005 | » | 0 | 0 |
| 0,0025 | » | 0 | 0 |

Kontrolle: Die Kieselsäure ist stabil in der angewandten Salzlösung.

Tabelle VI.

Abfallende Kieselsäuremengen. Eiereiweifslösung ca. 0,3% (in 100 ccm 0,05 g N).

| Kieselsäure | Eiweifs | | + 4 Tropfen NaCl 10% |
|---|---|---|---|
| 1 | 1 ccm | 0 | Trübung |
| 0,5 | » | +++ | +++ |
| 0,25 | » | 0 | +++ |
| 0,1 | » | 0 | +++ |
| 0,05 | » | 0 | +++ |
| 0,025 | » | 0 | +++ |
| 0,01 | » | 0 | 0 |
| 0,005 | » | 0 | 0 |
| 0,0025 | » | 0 | 0 |

Tabelle VII.

Abfallende Kieselsäuremengen bei konzentrierterer Eiweifslösung. Eiereiweifslösung ca. 3% (in 100 ccm 0,5 g N).

| Kieselsäure | Eiweifs | | + 4 Tropfen NaCl 10% |
|---|---|---|---|
| 1 | 1 ccm | Trübung | +++ |
| 0,5 | » | Trübung | +++ |
| 0,25 | » | Trübung | +++ |
| 0,1 | » | Spur | +++ |
| 0,05 | » | Spur | Spur |
| 0,025 | » | 0 | 0 |
| 0,01 | » | 0 | 0 |
| 0,005 | » | 0 | 0 |
| 0,0025 | » | 0 | 0 |

Resultat: Konzentrierte Eiweifslösungen geben mit ebenfalls nicht zu dünnen Kieselsäurelösungen Fällungen.

Die hemmenden Wirkungen des Salzes sind bei der Kieselsäure sehr wenig ausgesprochen. Die fällungsbefördernde Wirkung der Salze tritt bei konzentrierteren Eiweifslösungen weniger hervor als bei verdünnten. Möglicherweise machen sich in den konzentrierten Eiweifslösungen noch Salzspuren bemerkbar, die durch Dialyse nur schwer zu entfernen sind.

## IV. Molybdänsäure.

Tabelle VIII.

Abfallende Eiweifsmengen. Eiereiweifslösnng ca. 5% (in 100 ccm 0,8 g N).

| Eiweifs | Molybdänsäure | | + 4 Tropfen NaCl 10% |
|---|---|---|---|
| 1 | 0,01 ccm | +++ | 0 |
| 0,5 | » | +++ | 0 |
| 0,25 | » | +++ | 0 |
| 0,1 | » | Trübnng | Trübnng |
| 0,05 | » | 0 | +++ |
| 0,025 | » | 0 | +++ |
| 0,01 | » | 0 | +++ |
| 0,005 | » | 0 | +++ |
| 0,0025 | » | 0 | +++ |

Die Kontrolle ergibt, dafs die Molybdänsäure in der Salzlösnng allein stabil ist.

Tabelle IX.

Abfallende Molybdänsäuremengen. Eierelweifslösung ca. 3%
(in 100 ccm 0,5 g N).

| Molybdänsäure | Eiweifs | | + 4 Tropfen NaCl 10% |
|---|---|---|---|
| 1 | 1 ccm | +++ | +++ |
| 0,5 | » | +++ | +++ |
| 0,25 | » | 0 | +++ |
| 0,1 | » | 0 | +++ |
| 0,05 | » | 0 | +++ |
| 0,025 | » | +++ | 0 |
| 0,01 | » | +++ | 0 |
| 0,005 | » | ++−+++ | 0 |
| 0,0025 | » | ++−+++ | 0 |

Resultat: In salzfreier Lösung nnregelmäfsige Reihen. Salzzusatz entfaltet gleichzeitig hemmende nnd fällende Wirkungen.

### V. Antimontrisulfid.

Tabelle X.

Abfallende Eiweifsmengen. Eiereiweifslösung ca. 3% (in 100 ccm 0,5 g N).

| Eiweifs | Antimontri-sulfid | | + 3 Tropfen NaCl 10% |
|---|---|---|---|
| 1 | 0,1 ccm | +++ | 0 |
| 0,5 | » | +++ | 0 |
| 0,25 | » | +++ | 0 |
| 0,1 | » | +++ | 0 |
| 0,05 | » | +++ | +++ |
| 0,025 | » | +++ | +++ |
| 0,01 | » | +++ | +++ |
| 0,005 | » | +++ | +++ |
| 0,0025 | » | +++ | +++ |
| 0,001 | » | + | +++ |
| 0,0005 | » | 0 | +++ |
| 0,00025 | » | 0 | +++ |

Kontrolle: Antimontrisulfit fällt in der benutzten Kochsalzlösung.

Tabelle XI.

Abfallende Eiweifsmengen bei unzureichender Salzmenge. Eiereiweifslösung ca. 3% (in 100 ccm 0,5 g N).

| Eiweifs | Antimontri-sulfid | | + 1 Tropfen 5% NaCl |
|---|---|---|---|
| 1 | 1 ccm | +++ | +++ |
| 0,5 | » | ++ | +++ |
| 0,25 | » | + | + |
| 0,1 | » | + | + |
| 0,05 | » | ++ | ++ |
| 0,025 | » | +++ | +++ |
| 0,01 | » | ++−+++ | +++ |
| 0,005 | » | ++ | ++−+++ |
| 0,0025 | » | + | ++−+++ |
| 0,001 | » | 0 | ++ |
| 0,0005 | » | 0 | ++ |
| 0,00025 | » | 0 | + |

Kontrolle: Antimontrisulfit in Salzlösung fällt nicht.

Tabelle XII.

Abfallende Antimontrisulfidmengen. Eiereiweifslösung ca. 5% (in 100 ccm 0,8 g N).

| Antimontrisulfid | Eiweifs | | 2 Tropfen NaCl 10% |
|---|---|---|---|
| 1 | 1 ccm | +++ | Trübung |
| 0,5 | » | +++ | Trübung |
| 0,25 | » | +++ | 0 |
| 0,1 | » | +++ | 0 |
| 0,05 | » | +++ | 0 |
| 0,025 | » | +++ | 0 |
| 0,01 | » | 0 | 0 |
| 0,005 | » | 0 | 0 |
| 0,0025 | » | 0 | 0 |

Resultat: Eiweifs ergibt mit Antimontrisulfid Fällung und Andeutung von unregelmäfsigen Reihen.

Tabelle X demonstriert die hemmende Wirkung der Salze und gleichzeitig die des Eiweifses.

Tabelle XI zeigt, dafs Eiweifs wie Salz die Fällung begünstigen.

Aus Tabelle XII ist zu ersehen, dafs bei steigenden Antimontrisulfidmengen der Eiweifsschutz nicht ausreicht.

## VI. Arsentrisulfid.

Tabelle XIII.

Abfallende Eiweifsmengen. Eiereiweifslösung (in 100 ccm 0,27 g N).

| Eiweifs | Arsentrisulfid | |
|---|---|---|
| 1 | 1 ccm | +++ |
| 0,5 | » | 0 |
| 0,25 | » | 0 |
| 0,1 | » | +++ |
| 0,05 | » | +++ |
| 0,025 | » | +++ |
| 0,01 | » | ++ |
| 0,005 | » | ++ |
| 0,0025 | » | ++ |
| 0,001 | » | 0 |
| 0,0005 | » | 0 |
| 0,00025 | » | 0 |

Resultat: Eiweifs ergibt mit Arsentrisulfid unregelmäfsige Fällungsreihen. Versuche in salzhaltiger Lösung wurden nicht angestellt.

### VII. Silber nach Carey Lea.

Tabelle XIV.

Abfallende Eiweifsmengen. Eiereiweifslösung ca. 5 % (in 100 ccm 0,8 g N).

| Eiweifs | Silber | | + 2 Tropfen NaCl 10 % |
|---|---|---|---|
| 1 | 0,04 ccm | +++ | 0 |
| 0,5 | » | +++ | 0 |
| 0,25 | » | +++ | 0 |
| 0,1 | » | 0 | 0 |
| 0,05 | » | 0 | 0 |
| 0,025 | » | 0 | 0 |
| 0,01 | » | 0 | 0 |
| 0,005 | » | 0 | +? |
| 0,0025 | » | 0 | +? |
| Kontrolle: — | » | 0 | +++ |

Tabelle XV.

Abfallende Silbermengen. Eiereiweifslösung ca. 5 % (in 100 ccm 0,8 g N).

| Silber | Eiweifs | | + 2 Tropfen NaCl 10 % |
|---|---|---|---|
| 0,5 | 1 ccm | 0 | 0 |
| 0,25 | » | +++ | 0 |
| 0,1 | » | +++ | 0 |
| 0,05 | » | +++ | 0 |
| 0,025 | » | +++ | 0 |

Resultat: Silber und Eiweifs fallen nur, wenn Eiweifs konzentriert, Silber verdünnt ist.

Salz hebt die Fällung auf. Ebenso wird Silber gegen Eiweifs durch Salz geschützt. Ein fällungsbefördernder Einfluſs der Salze ist nicht zu erkennen.

### VIII. Platin nach Bredig.

Tabelle XVI.

Ziegenserum (4 Tage gegen fliefsendes Wasser dialysiert).

| Serum | Platinsol | |
|---|---|---|
| 1 | 1 ccm | ++ Der Niederschlag besteht zum gröfseren Teil aus Platin |
| 0,5 | » | ++ |
| 0,25 | » | ++ |
| 0,1 | » | 0 |
| 0,05 | » | 0 |
| 0,025 | » | 0 |
| 0,01 | » | 0 |

Resultat: Gröfsere Serummengen fällen das kolloidale Platin. In salzhaltiger Lösung wurden keine Versuche vorgenommen.

---

Anmerkung während der Korrektur: In einer während der Drucklegung dieser Arbeit erschienenen Mitteilung (Hofmeisters Beitr., Bd. VII, H. 12)

Digitized by Google

### b) Besprechung der Versuchsergebnisse.

Die Fällung der Eiweifskörper durch anorganische Kolloide ist einer theoretischen Betrachtung nicht so leicht zugänglich wie die der anorganischen Kolloide untereinander. Bestehen doch schon über die Ursachen der Stabilität von Eiweifslösungen verschiedene Anschauungen. Hardy[1]) nahm an, dafs das Eiweifs nur durch seine elektrische Ladung in Lösung gehalten werde, die je nach der Reaktion der Flüssigkeit eine positive oder negative ist, dafs es im isoelektrischen Punkt also instabil sei, während Billitzer[2]) diese Ansicht nur für koaguliertes Eiweifs zuläfst, die Stabilität nativer Eiweifslösungen dagegen auf die Kleinheit ihrer Teilchen zurückführt und somit im isolelektrischen Punkt die gröfste Unempfindlichkeit nativer Eiweifslösungen gegenüber Elektrolyten annimmt.

Die Fällung zwischen anorganischen Kolloiden wird bekanntlich auf eine Neutralisierung ihrer elektrischen Ladungen zurückgeführt. Fassen wir die Eiweifskörper als elektroamphotere Elektrolyte resp. Zwitterionen auf, so ist die Vorstellung einer Entladung durch ein einsinnig geladenes Kolloid schwer durchführbar, da auf dem Komplex stets eine freie Ladung zurückbleiben mufs.

Billitzer hat nun in seinen umfassenden und für die Theorie der Kolloide sehr wichtigen Arbeiten die Vorstellungen über die Fällung der anorganischen Kolloide untereinander auch auf die Fällungen der eiweifsartigen Stoffe auszudehnen gesucht, indem er die Annahme macht, dafs diese nur dann andere Kol-

berichtet Pauli, dafs Elweifs, welches 6—8 Wochen lang dialysiert worden ist, weder mit positiven noch mit negativen Kolloiden Fällungen gibt. Pauli benutzt dabei allerdings nicht die reinen Kolloide, sondern die Salze der Schwermetalle, deren Fällungsvermögen er auf ihren Gehalt an kolloidalem Metallhydroxyd zurückführt. Da aber in den Salzen stets auch Jonen vorhanden sind, welche der Fällung entgegenwirken können, auch die Fällung zwischen Kolloiden nnd Eiweifs an ganz bestimmte Mengenverhältnisse gebnnden ist, dürfte die Schwermetallsalzfällung über dle Fällbarkeit durch Kolloide keinen sicheren Aufschlufs geben. Im übrigen ist es natürlich durchaus möglich, dafs solange dialysiertes Serum sich gegen Kolloide anders verhält als das in meinen Versuchen benutzte, und es wäre theoretisch ein solcher Unterschied sicherlich von grofsem Interesse.

1) Journ. of physiol. 24 (1899). — Zeitschr. f. physik. Chemie 33 (1901).
2) a. a. O.

loide fällen, wenn sie durch die Reaktion der Flüssigkeit eine diesen entgegengesetzte Ladung angenommen haben. Gelatine ist stets schwach sauer und elektropositiv. Sie giht daher mit negativen Kolloiden Trübung, nicht mit positiven. Auch auf den negativen Mastix wirkt sie ein, indem sie seine Fällharkeit durch Salze erhöht (Bechhold, M. Neifser und Verfasser[1]). In alkalischer Lösung, in der die Gelatine negativ ist, treten diese Wirkungen nicht ein.

Diese Anschauung Billitzers ist meiner Ansicht nach nicht haltbar, so wichtig auch die Entdeckung ist, dafs Kolloide durch geringe Reaktionsänderungen umgeladen werden. Um hei den Versuchen mit Mastix zu hleihen, so dürfte wohl hei einer Gelatinekonzentration von 1 : 2000000, wie sie in den erwähnten Versuchen zur Anwendung kam, kaum noch von einer sauren Reaktion gesprochen werden. Bei Blutserum, Blutegelextrakt etc., die ganz in der gleichen Weise wirken, ist vollends eine saure Reaktion nicht zu heohachten, und schliefslich zeigten ja diese Versuche, dafs dieselbe Eiweifslösung sowohl mit positiven wie mit negativen Kolloiden Fällungen giht.

Durch Versuche mittels der elektrischen Kataphorese konnte ich nun feststellen, dafs der Ladungssinn der Eiweifskörper gegen Wasser für ihr Fällungsvermögen auf anorganische Kolloide überhaupt nicht ausschlaggebend ist. Hardys koaguliertes Eiweifs, welches zur Anode wandert, gibt trotzdem mit allen untersuchten anorganischen negativen Kolloiden, (Arsen-, Antimontrisulfid, Kieselsäure, Molyhdänsäure) starke Fällungen.

Wollte man an der Billitzerschen Anschauung festhalten, so müfste man annehmen, dafs die negativen Kolloide stets sauer, die positiven hasisch reagierten. Diese Annahme ist aher sehr unwahrscheinlich, da die Arsentrisulfidlösung z. B. sich kaum Monate lang gehalten haben würde, wenu sie so sauer reagiert hätte, um Eiweifs momentau umzuladen.

1) a. a. O.

Weit eher wäre schon daran zu denken, ob nicht das Eiweifs durch ein negatives Kolloid selbst eine positive Ladung annehmen könne. Verhalten sich doch auch schwache Basen (z. B. Aluminiumhydroxyd) starken Basen (Natriumhydroxyd) gegenüber wie Säuren. Ob allerdings eine Beeinflussung eines Kolloids durch das andere vermittelst gleicher Jonen (H-Jonen), welche Landsteiner und Jagic[1]) annehmen, hier in Betracht kommen kann, mufs mindestens zweifelhaft erscheinen, da die H-Jonen Konzentration einer negativen Kolloidlösung wohl kaum grofs genug sein dürfte, um Eiweifs umzuladen. Zudem ist ja die Annahme, dafs H- resp. OH-Jonen abdissociiert werden, vorläufig wohl nur für die oxydartig gebauten Kolloide zulässig, und würde daher die Fällung von Eiweifs durch die kolloidalen Sulfide nicht erklären.

Bei dem gegenwärtigen Stand unserer Kenntnisse ist es daher wohl das einfachste, anzunehmen, dafs das anorganische Kolloid (+ oder —) sich an die eine freie Ladung des Zwitterions-Eiweifs (bzw. amphoteren Kolloids) anlagert und so zur Entstehung gröfserer Komplexe Anlafs gibt, welche sodann ausfallen.

Eine Konsequenz dieser Anschauung ist, dafs die ausfallenden Kolloideiweifsmischungen stets noch eine freie elektrische Ladung tragen[1]), und damit erklärt sich vielleicht der grofse Einfluſs, welchen die Gegenwart von Salzen auf die Kolloideiweifsfällungen ausübt, vor allem auch die lösende Wirkung, welche die Salze auf die entstehenden Niederschläge zeigen. Denn nach den wichtigen Untersuchungen Paulis[2]) gibt es ja Jonen, welche auf die Eiweifsfällungen einen hemmenden Einfluſs besitzen, offenbar also die Ladung des Eiweifses vergröfsern. Auch an eine Beeinflussung der Ladung der Eiweifskörper durch Salze wäre zu denken[3]); konnte doch Pauli beobachten, dafs in Gegenwart von H-Jonen die Reihenfolge im Fällungsvermögen der

1) a. a. O.

2) Hofmeisters Beitr., Bd. 2, H. 1, Bd. 3, H. 4—6, Bd. 5, H. 1 u. 2.

3) Experimentell liefs sich eine solche nicht nachweisen, da Hardys koaguliertes Eiweifs bei 220 Volt und Stromstärken bis zu 1,5 Ampere in salzhaltiger Lösung gar keine Wanderung zeigte, offenbar infolge des zu geringen Widerstandes der Lösung.

Alkalisalze sich umkehrt. Aus diesen Gesichtspunkten dürfte die fast völlige Umkehr der Fällungskurve zwischen Eiweifs und Kolloiden in salzhaltiger Lösung, die Hemmung in ausfallenden Gemischen, die Fällung überneutralisierter Mischungen verständlich werden. Eine genauere Analyse der Beobachtungen dürfte aber wohl erst möglich sein, wenn die Wirkung der einzelnen Jonen bei diesen Vorgängen genauer studiert würde.

## II. Schutzkolloide.

Die erwähnten Versuche über die Kolloideiweifsfällungen stehen in naher Beziehung zu den Wirkungen der sog. »Schutzkolloide«[1]) und dürften diese in einem ganz anderen Licht erscheinen lassen. Da die Eiweifskörper mit denselben Kolloiden, welche sie gegen Salze schützen, in salzfreier Lösung bei bestimmten Mengenverhältnissen Fällungen geben, so ist es überhaupt fraglich, ob die Trennung in »Schutzkolloide« und »Fällungskolloide« prinzipiellen Unterschieden entspricht.[2]) Vielmehr scheinen fällende (oder wenigstens fällungsbefördernde) und hemmende Wirkungen stets miteinander verknüpft zu sein.

Sodann ist aber zu beachten, dafs instabile anorganische Kolloide durch Eiweifs allerdings vor der Ausflockung durch Salze geschützt werden, dafs umgekehrt aber auch die Ausflockung der Eiweifskörper durch stabilere anorganische Kolloide in Gegenwart von Salzen gehemmt wird.

Die Schutzwirkung der Eiweifskörper erscheint somit nur als ein Ausschnitt der Fällungskurve zwischen Eiweifs und Kolloid in salzhaltiger Lösung.

Auf eine Ansicht, welche Billitzer[3]) über die Wirkung der Schutzkolloide entwickelt hat, sei hier noch kurz eingegangen. Da dieser Autor fand, dafs Gelatine auch dann schützende

1) Schulz und Zsymondy, Zeitschr. f. analyt. Chemie, 40, S. 697. — Hofmeisters Beitr., Bd. 3, S. 137.

2) Allerdings mufs bemerkt werden, dafs Gelatine z. B. in salzfreier Lösung mit Mastix keine Fällung ergibt. Möglicherweise sind aber die entstehenden Komplexe, wie Billitzer annimmt, nur zu klein, um auszufallen. Auch dürfte der Einfluss verschiedener Temperaturen dabei noch zu wenig studiert sein.

3) Zeitschr. f. physik. Chemie, Bd. 51, S. 162.

Eigenschaften für Kolloide zeigt, wenn sie durch die Reaktion der Lösung eine diesen gleiche Ladung trägt, so nimmt er bei diesem Vorgang eine direkte Einwirkung des Eiweifses auf die Kolloide überhaupt nicht an, glaubt vielmehr, dafs die Gelatine, resp. das Eiweifs das Salz gleichsam für sich in Beschlag nimmt und so von dem instabileren Kolloid ablenkt. Demgegenüber mufs jedoch betont werden, dafs die schützende Gelatinemenge dann der Salzmenge proportional sein müfste, während in den Versuchen von Bechhold, M. Neifser und Verfasser[1]) das Gegenteil nachgewiesen wurde, nämlich gänzliche Unabhängigkeit der Schutzgrenze vom Salzgehalt, welche vielmehr von der Menge des zu schützenden Kolloids lediglich abhängig ist.

Hingegen werden die Befunde Billitzers unter der Annahme, dafs anorganische Kolloide auch durch gleichsinnig geladenes Eiweifs beeinflufst werden können, leicht verständlich.

### III. Theoretische Bemerkungen zu den Kolloidfällungen.

Da es sich bei den vorliegenden Versuchen um die Einwirkung von Salzen auf anorganische und organische Kolloide handelt, so mögen einige Bemerkungen über die Theorien der Kolloidfällungen durch Elektrolyte hier Platz finden.

Die Anschauungen über die Fällungen der anorganischen Kolloide und der Eiweifskörper bewegten sich auf verschiedenen Wegen. Die einfachen Beziehungen zwischen den Ladungen der anorganischen Kolloide und dem Fällungsvermögen der Jonen liefsen die elektrischen Theorien entstehen (Hardy[2]), Bredig[3]), Billitzer[4]), während bei der Aussalzung der Eiweifskörper mehr an einen Kampf der Salze mit dem Eiweifs um das Lösungsmittel gedacht wurde (Hofmeister[5]), Spiro[6]). Ursprünglich glaubte man sogar die Wirkung der Leichtmetalle bei der Aussetzung als »Neutralsalzwirkung« von der eigentlichen »Jonen-

1) a. a. O.
2) a. a. O.
3) Anorganische Fermente, Leipzig, 1901.
4) a. a. O.
5) Archiv f. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 25, 27 u. 28.
6) Hofmeisters Beitr., Bd. 4, S. 300.

wirkung« bei den Schwermetallsalzen und den Fällungen der anorganischen Kolloide prinzipiell scheiden zu müssen. Wenn nun auch diese Trennung nach dem Nachweise Paulis[1]), dafs auch die Wirkung der Alkalisalze auf Eiweifs sich additiv aus den Jonenwirkungen ergibt, nicht mehr aufrechtzuerhalten ist, so mufs doch bemerkt werden, dafs die Entziehungstheorie (Hofmeister) einige Tatsachen gut erklärt, welche von den elektrischen Theorien unberührt gelassen werden. Vor allem wäre die wichtige Entdeckung Hofmeisters[2]) zu erwähnen, dafs die Salze in derselben Reihenfolge, in welcher sie sich nach ihrem Eiweifsfällungsvermögen ordnen, auch die Quellung von Gelatinescheiben verhindern, gleichsam als ob ihr Fällungsvermögen mit einer gewissen Anziehung auf das Lösungsmittel im Zusammenhang stünde.

Im folgenden sei nun auf einige, wie mir scheint, bisher nicht beachtete, sehr auffallende Beziehungen zwischen Wasser anziehenden Kräften der Jonen und einigen Eigenschaften, die auch bei der Fällung der Kolloide eine Rolle spielen, hingewiesen, die möglicherweise eine Verbindung zwischen den elektrischen Theorien und den Entziehungstheorien anbahnen könnten. Dafs die hier in Betracht kommenden Anziehungskräfte auf das Wasser nichts mit den osmotischen Kräften zu tun haben, wie man ursprünglich annahm, erhellt schon daraus, dafs diese rein kolligative Eigenschaften der Molekeln darstellen, überdies bei Nichtelektrolyten in der gleichen Weise vorhanden sind.

Dagegen offenbaren die Jonen ein Anziehungsvermögen für Wasser in der Kontraktion, welche beim Auflösen von Salzen zu beobachten ist. In ihrer Theorie der Elektrostriktion führten Drude und Nernst[3]) aus, dafs diese Volumverminderung durch das elektrostatische Feld der Jonen bedingt wird, indem in diesem das Dielektrikum Wasser sich zusammenzieht. Da die Kontraktion in unmittelbarer Nähe der Jonen am stärksten ist, so kann man aber auch

1) a. a. O.
2) a. a. O.
3) Zeitschr. f. physik. Chemie, Bd. 15.

von einer dielektrischen Anziehung der Jonen auf das Lösungsmittel sprechen.

Die Gröfse dieser Kontraktion wurde nun durch Kohlrausch und Hellwachs[1]) und Valson[2]) bei den verschiedenen Elektrolyten gemessen. Besonders der letztere Autor stellte bei einer grofsen Reihe von Salzen vergleichende Untersuchungen an und gelangte zu dem wichtigen Resultat, dafs die Volumkontraktion eine additive Eigenschaft der Jonen ist (wie die Kolloidfällung), und dafs jedes Jon einen bestimmten Modul besitzt. Sehr interessant ist es nun, dafs die Jonen sich nach der Gröfse der durch sie bewirkten Kontraktion in dieselbe Reihe ordnen lassen wie nach ihrem Fällungsvermögen für Eiweifs.

So fand Valson die Kontraktion in Normallösungen der betreffenden Salze (C. r. Bd. 77 S. 803):

| | | |
|---|---|---|
| $Na_2B_4O_7 = 34{,}4$ | $NH_4B_4O_7 = 34{,}4$ | $K_2SO_4 = 13{,}2$ |
| $Na_2CO_3 = 21$ | $(NH_4)_2CO_3 = 21$ | $KFl = 12{,}8$ |
| $Na_2SO_4 = 16{,}7$ | $(NH_4)_2SO_4 = 10{,}1$ | $KCl = 8{,}8$ |
| $NaFl = 9{,}7$ | $NH_4Fl = 3{,}5$ | $KNO_3 = 9{,}6$ |
| $NaCl = 9$ | $NH_4Cl = -2{,}1$ | $KBr = 11{,}1$ |
| $NaNO_3 = 8{,}5$ | $NH_4NO_3 = 0{,}1$ | $KJ = 9{,}2$ |
| $NaBr = 8$ | $NH_4Br = -3{,}6$ | |
| $NaJ = 5{,}4$ | $NH_4J = -5{,}1$ | |

Bei den Natriumsalzen fällt die Reihenfolge der Anionen vollkommen mit der von Hofmeister und Pauli festgestellten für die Eiweifsfällung zusammen. Bei den Kalium- und Ammoniumsalzen finden sich an einzelnen Stellen kleine Abweichungen, doch ist im ganzen auch hier die Übereinstimmung eine sehr gute, zumal wenn man erwägt, dafs die Methode Valsons wohl kleine Fehlerquellen in sich schliefst und vor allem die elektrolytische Dissoziation der Salze dabei nicht berücksichtigt wurde.

1) Wied. Ann. 53 (1894) und 56 (1895).

2) Compt. rend. d. sciences de l'Acad. des scienc., Bd. 73, S. 441, 1376. — Valson et Favre, ibidem, Bd. 73, S. 1144, Bd. 77, S. 577, 802, 907; vgl. auch Nernst, Lehrbuch d. theoret. Chemie, 4. Aufl., S. 383.

Es ergibt sich somit, dafs ein Salz um so stärker eiweifsfällend wirkt, je gröfser die durch sein Anion hervorgerufene Volumkontraktion ist. Wie die Tabellen zeigen, ist das additive Verhalten nicht genau erfüllt, vielmehr zeigen die Borate und Karbonate, dafs der Einfluſs des Kations um so geringer wird, je stärker das Anion wirkt. Ganz ähnlichen Verhältnissen begegnet man auch bei der Kolloidfällung.

Bei den Kationen ist die Übereinstimmung zwischen der Volumkontraktion und der Eiweifsfällung keine so vollkommene; doch finden sich die allgemeinen Gesetzmäfsigkeiten auch hier wieder. So stehen nach steigender Kontraktion geordnet zuerst $NH_4$ und sodann K und Na, weiterhin die Erdalkalien, während die Schwermetalljonen im allgemeinen eine sehr starke Volumverminderung verursachen. Wie also die Kationen mit niedriger Entladungsspannung im allgemeinen Eiweifs und anorganische Kolloide am stärksten fällen, so zeigen sie auch die gröfste dielektrische Anziehung auf Wasser.

Schliefslich sei darauf hingewiesen, dafs auch die Gröfse der Ladung eines Jons die Stärke der Elektrostriktion quantitativ in ähnlicher Weise bestimmt wie das Fällungsvermögen für Salze. Schulze[1]) machte schon vor längerer Zeit darauf aufmerksam, dafs die Fällkraft eines Jons stark mit seiner Wertigkeit wächst. Auch die Gröfse der Elektrostriktion mufs nach der Theorie von Nernst und Drude mit der Ladung der Jonen steigen.[2])

Es mufs bemerkt werden, dafs die Volumkontraktionen, die sich in obigen Tabellen finden, streng genommen nicht allein von der Elektrostriktion abhängen, da Valson wasserfreie Salze benutzte. Von der Volumverminderung ist also eigentlich diejenige abzuziehen, die bei der Aufnahme des Kristallwassers ein-

1) Journ. f. prakt. Chemie, Bd. 25, S. 431.

2) Von Spiro (a. a. O.) wurde in der erwähnten Arbeit auf Beziehungen zwischen dem Fällungsvermögen der Jonen, ihrem Einfluſs auf die Katalyse durch H und OH-Jonen, auf die Ausflufsgeschwindigkeit des Wassers, ihrer Neigung, übersättigte Lösungen zu bilden, und verschiedenen Eigenschaften, die der Verf. mit der inneren Reibung der Salzlösungen in Zusammenhang bringt, hingewiesen. Höchst wahrscheinlich ist auch diese eine Funktion der Elektrostriktion.

tritt. Aber auch dann bleibt die Gesetzmäfsigkeit im allgemeinen erhalten, wie die folgende Tabelle zeigt:

| | |
|---|---|
| $Na_2 = 13{,}5$ | $NaNO_3 = 8{,}5$ |
| $Na_2CO_3 = 7{,}2$ | $NaBr = 4$ |
| $Na_2SO_4 = 10{,}9$ | $NaJ = 4{,}4.$ |
| $NaFl = 9{,}7$ | |
| $NaCl = 9$ | |

Möglicherweise steht auch die Bindung des Kristallwassers mit den elektrostatischen Kräften, welche die dielektrische Anziehung bedingen, im Zusammenhang; denn es ist auffallend, dafs die Salze, welche die stärkste Volumkontraktion hervorrufen, auch kristallwasserhaltiger sind[1]).

Es mag noch auf einige Möglichkeiten hingewiesen werden, den Zusammenhang zwischen Fällungsvermögen der Salze und der durch sie bewirkten Volumkontraktion zu erklären. Der älteren Hofmeister'schen Entziehungstheorie nähert sich die Theorie von Wetham und Wright, welche dielektrischen Kräften der Jonen ebenfalls Rechnung trägt. Diese Theorie, welche von der Annahme ausgeht, dafs das Wasser infolge seiner gröfseren Dielektrizitätskonstante in das elektrische Feld der Jonen hineingezogen würde und so die Kolloidteilchen gewissermafsen auspreſst, leidet jedoch an dem Übelstand, dafs sie nicht zu erklären vermag, warum stets das dem Kolloid entgegengesetzt geladene Jon bei dem Fällungsvorgang eine so mafsgebende Rolle spielt.

Dagegen liefse sich vielleicht durch eine Modifikation der Billitzerschen Theorie eine Auffassung gewinnen, die eine einheitliche Erklärung der beobachteten Tatsachen gestatten würde. Billitzer vergleicht die Jonen bei der Fällung der Kolloide mit Kondensationskernen, welche die Kolloidteilchen sammeln; bei dieser Anziehung nimmt Billitzer offenbar ein Aufeinanderwirken elektrischer Ladungen an; denn er ist der Meinung, dafs die ausfallenden Koagula elektrisch neutral seien. Grofse Schwierigkeiten erwachsen nun aber daraus, dafs Billitzer

1) Auch hierbei haben die Anionen einen stärkeren Einfluſs als die Kationen.

dann natürlich annehmen mufs, dafs die Ladung eines Kolloid teilchens sehr viel kleiner als die eines Jons sei, während doch anderseits nach seiner Theorie die auf den Kolloidteilchen durch Abdissociieren von Jonen zurückbleibende Ladung mindestens einer Jonenladung äquivalent sein müfste.

Diese Schwierigkeit liefse sich vielleicht umgehen, wenn man den Vergleich mit den Kondensationskernen weiter durchführt. Bei der Kondensation übersättigten Wasserdampfes durch Luftjonen findet ja, wie die berühmten Untersuchungen Thompsons gezeigt haben, eine Anziehung der Jonen auf die elektrisch neutralen Wasserteilchen statt, und diese Anziehung wird auf dielektrische Kräfte zurückgeführt (Nernst). Es wäre wohl denkbar, dafs auch bei der Fällung der Kolloide derartige Kräfte neben den Ladungen der Kolloidteilchen eine Rolle spielen. Jedenfalls wäre unter dieser Annahme der Parallelismus zwischen dem Fällungsvermögen der Jonen und ihrer dielektrischen Anziehung auf das Wasser wohl verständlich.

## IV. Immunkörperreaktionen.

### a) Präzipitine.

Bei den spezifischen Präzipitinreaktionen wurden von M. Neifser[1]) sehr ähnliche Beobachtungen gemacht, wie sie soeben bei den Kolloideiweifsfällungen berichtet wurden.

Mischt man ein präzipitierendes Serum mit seinem homologen Eiweifskörper in 0,85proz. Kochsalzlösung in geeigneten Mengenverhältnissen, so erfolgt bekanntlich eine Fällung. Dialysiert man nun vorher beide Flüssigkeiten mehrere Tage und mischt sie dann, so fällt der Niederschlag viel mächtiger aus, und diese Fällung löst sich wieder, sobald man Kochsalz hinzufügt. Das gleiche Resultat erhält man, wenn man vorher die Sera mit destilliertem Wasser verdünnt und einen Strom von Kohlensäure hindurchleitet, wobei die Globuline zum grofsen Teil ausfallen. Wir finden also auch bei den Präzipitinen bei

1) Hygien. Rundschau, 1903, S. 1261.

gewissen Mischungsverhältnissen eine Fällung in salzfreier, bei andern eine solche in salzhaltiger Lösung.

Die Ähnlichkeit mit dem Verhalten der Kolloideiweifsfällungen läfst vermuten, dafs die eigentümliche Rolle, welche die Salze bei der spezifischen Präzipitation spielen, darauf zurückzuführen ist, dafs dabei ein amphoteres Kolloid mit einem sauren oder basischen reagiert, und es ist nicht ausgeschlossen, dafs eine weitere Aufklärung dieser Verhältnisse auch Anhaltspunkte für die Erforschung der chemischen Natur der Immunkörper liefern wird.

Es mufs allerdings bemerkt werden, dafs die Annahme nicht ausgeschlossen ist, dafs es zwei verschiedene Präzipitine giht, von denen das eine in salzhaltiger, das andere in salzfreier Lösung wirkt. Diese müfsten heide spezifische Reaktionsprodukte sein. Weitere Versuche müssen hierüher entscheiden; doch liegt bei der auffallenden Analogie zu den Fällungen von Eiweifs durch Kolloide (auch Histon) vorläufig keiu Grund vor, von der einfacheren Vorstellung abzugehen, dafs heide identisch sind.

### b) Agglutinine.

In Anlehnung an die Verhältnisse bei der Präzipitation gelang es mir, den Nachweis zu führen, dafs auch eine Bakterienagglutination in salzfreier Lösung existiert und zwar bis zu nicht unerheblichen Verdünnungen (1:1000). Allerdings wich ich hei diesen Versuchen von der Versuchsanordnung Bordets[1]) ah, welcher bekanntlich durch seine Versuche dartat, dafs die Salze für den Vorgang der Ausflockung notwendig sind. Während Bordet die Bakterien hei einer bestimmten Konzentration mit agglutinierendem Serum hehandelte, mehrmals wusch und die ahzentrifugierten Bakterien sodann in destilliertem Wasser, resp. Kochsalzlösung aufschwemmte, dialysierte ich das Serum mehrere Tage und liefs es dann auf salzfreie, durch 1% Formalin ahge-

1) a. a. O., vgl. auch Friedberger, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 31, und Joos, J. f. Hygiene Bd. 36 und 40.

tötete Bakterienaufschwemmungen einwirken. Stets beobachtete ich auch in salzfreier Lösung eine ihrem Aussehen nach typische Bakterienagglutination. Die Verdünnungen, in denen diese noch eintrat, waren ziemlich wechselnde, und zwar scheint das Alter des Serums eine gewisse Rolle zu spielen. Wenigstens geben alte getrocknete Pferdesera stets nur eine mäfsige Agglutination in salzfreier Lösung, indem dieselbe häufig sehr spät eintrat und erst nach einigen Tagen komplett wurde. Frische Sera agglutinierten rasch (Kaninchen-, Ziegen-, Rinderserum), doch schwankte auch ihr Titer nicht unerheblich. Meist lag er zwischen 1:200 und 1:1000, doch kamen auch Sera zur Beobachtung, die in weit geringerem Grade in salzfreier Lösung wirkten.

Die weitere Verfolgung dieser Beobachtung zeigte jedoch, wie aufserordentlich vorsichtig man in der Deutung von Vorgängen sein mufs, die sich in einer so kompliziert zusammengesetzten Flüssigkeit, wie sie das Blutserum ist, abspielen, und wie häufig verwickeltere Vorstellungen an Stelle der einfacheren Erklärungsmöglichkeiten treten müssen.

Es zeigte sich nämlich, dafs die Höhe, in der ein Serum in salzfreier Lösung agglutiniert, von seinem Titer in salzhaltiger Lösung unabhängig ist, und dafs Normalsera sich in dieser Beziehung den Immunseris durchaus gleich verhalten. So gab auch ein normales Kaninchenserum noch in der Verdünnung 1:1000 in salzfreier Lösung deutliche Agglutination, während es in salzhaltiger Lösung fast gar nicht wirkte[1]) (s. Tabelle). Das Gleiche beobachtete ich bei den Seris anderer Spezies (Ziege, Rind). Will man nicht die Annahme machen, dafs die Spezifität der Agglutinationsreaktion nur in salzhaltiger Lösung in die Erscheinung tritt (Henri[2]), Zaugger[3]), so spricht diese Feststellung wohl sehr dafür, dafs die Substanzen, welche in salzfreier Lösung wirken, mit den spezifischen Agglutininen nicht

1) Damit ist auch der Einwand widerlegt, dafs ungenügende Entfernung der Salze die Agglutination in »salzfreier« Lösung bedingen könne.

2) a. a. O.

3) a. a. O.

identisch sind, eine Vermutung, für die noch weitere Beweise erbracht werden.

Tabelle I.

**Typhuskaninchenserum wird 4 Tage gegen fliefsendes Wasser dialysiert nnd filtriert.**

| Serum | Dünne Bakterien-aufschwemmung | In reinem Wasser | + 3 Tropfen NaCl 10% |
|---|---|---|---|
| 1 : 2 | 1 Tropfen | +++ | +++ |
| 1 : 4 | » | +++ | +++ |
| 1 : 8 | » | +++ | +++ |
| 1 : 16 | » | +++ | +++ |
| 1 : 32 | » | +++ | +++ |
| 1 : 64 | » | +++ | +++ |
| 1 : 128 | » | +++ | +++ |
| 1 : 256 | » | +++ | +++ |
| 1 : 512 | » | 0 | +++ |
| 1 : 1024 | » | +++ | +++ |
| 1 : 2048 | » | 0 | +++ |
| 1 : 4096 | » | 0 | +++ |

Beobachtung nach 2h bei 37°, 20h bei Zimmertemperatur.

Tabelle II.

**Normales Kaninchenserum wird in der gleichen Weise behandelt.**

| Serum | Dünne Bakterien-aufschwemmung | In reinem Wasser | + 3 Tropfen NaCl 10% |
|---|---|---|---|
| 1 : 2 | 1 Tropfen | +++ | +++ |
| 1 : 4 | » | +++ | 0 |
| 1 : 8 | » | +++ | 0 |
| 1 : 16 | » | +++ | 0 |
| 1 : 32 | » | +++ | 0 |
| 1 : 64 | » | +++ | 0 |
| 1 : 128 | » | ++ | 0 |
| 1 : 256 | » | ++ | 0 |
| 1 : 512 | » | +++ | 0 |
| 1 : 1024 | » | +++ | 0 |
| 1 : 2048 | » | 0 | 0 |
| 1 : 4096 | » | 0 | 0 |

Sehr merkwürdige Resultate erhielt ich bei dem Versuch, beide Substanzen mit Hilfe der Ehrlichschen Absorptionsmethode zu trennen. Es stellte sich nämlich wiederholentlich heraus,

dafs nach Einbringung von Bakterien in die salzfreie Lösung der Agglutinationstiter ganz erheblich zugenommen hatte. Ganz dasselbe beobachtete ich, wenn ich mit einer Bakterienart (Typhus, Koli, Vibrio Metschnikoff) absorbierte und nunmehr untersuchte, ob das Agglutinin für diese verschwunden, für die anderen Bakterienarten aber erhalten war. Auch bei diesen Versuchen stieg häufig das Agglutinationsvermögen erheblich und zwar bisweilen nicht nur für die gleiche Art, sondern auch für eine der andern.

Im ganzen waren die Resultate so wechselnde und widersprechende, dafs ich auf diesem Wege zu einer Entscheidung der Frage, ob Agglutinin (Aqua dest.) und Agglutinin (NaCl) identisch sind, nicht gelangen konnte.

Worauf die soeben beschriebene paradoxe Tatsache beruht, kann ich nicht mit Sicherheit angeben, konnte jedoch feststellen, dafs gewisse physikalische Faktoren auf das Agglutinationsvermögen der salzfreien Sera von grofsem Einflufs sind. Ein und dasselbe Serum zeigte nämlich, zu verschiedenen Zeiten untersucht, ganz schwankende Agglutinationswerte und vor allem erwies sich die Temperatur, bei der die Sera vor Anstellung des Versuches aufgehoben wurden (Eisschrank oder Zimmertemperatur), nicht ohne Einflufs auf das Agglutinationsvermögen. Ich neige der Ansicht zu, dafs die durch Dialyse nie ganz zu entfernenden Globuline bei der Agglutination der salzfreien Sera eine Rolle spielt, wozu mich folgende Beobachtung veranlafst. Setzt man die Verdünnungen des Serums an und stellt die Röhrchen für 24 Stunden in den Eisschrank, so bildet sich ein ziemlich massiger Niederschlag (der bei Zimmertemperatur ziemlich gering ausfällt), und nach dessen Entfernung war das Agglutinationsvermögen in einem grofsen Teil der Röhrchen verschwunden. Allerdings geben auch reine Serumalbuninlösungen mit Bakterien Fällungen, aber nur in höheren Konzentrationen.

So interessant vielleicht eine Fortführung dieser Untersuchungen wäre, so habe ich doch davon Abstand genommen, da sie nicht im Rahmen dieser Arbeit liegen, zumal auf anderem

Wege der Nachweis erbracht werden konnte, dafs die spezifischen Agglutinine in salzfreier Lösung nicht wirken.

Benutzt man nämlich wieder die Bordetsche Versuchsanordnnng, aber mit der Abänderung, dafs man das agglutinierende Serum in allen möglichen Verdüuuungen auf die Bakterien einwirken läfst, so läfst sich auch bei den stärksten Serumkonzentrationen eine Reagglutinatiou in salzfreier Lösung nicht beobachten. Allerdings ist es dabei nötig, die agglutinierten Bakterien aufserordentlich stark zu zerschütteln, da sonst auch nach mehrmaligem Waschen stets wieder Reagglutiuation auch in Abwesenheit von Salzen erfolgt. Je mehr Agglutinin gebunden ist, um so schwieriger wird es, die Bakterien wieder völlig homogen zu verteilen, ein Beweis dafür, dafs das Agglutinin auch ohne Salze bereits eine nachweisbare Anderung in der Oberflächenbeschaffenheit der Bakterien herbeiführt.

Das Resultat dieser Untersuchungen ist, dafs die spezifischen Agglutinine iu salzfreier Lösung unwirksam siud, und dafs die Ahnlichkeit mit der Präzipitinreaktion und den Kolloideiweifsfällungen in dieser Hinsicht eine nur äufserliche ist.

Ein Kolloid, welches nur in salzhaltiger Lösung von Eiweifs gefällt wird, liefs sich nicht auffinden, doch sei darauf hingewiesen, dafs Suspensioneu (z. B. Mastix) das gleiche Verhalten wie Bakterien aufweisen (Bechhold, M. Neifser und Verf.[1]), so dafs möglicherweise der Suspensionscharakter eine Rolle bei dem Phänomen der Bakterienagglutination spielt. Es sei aber eine andere Erklärungsmöglichkeit erwähnt. Bechhold, M. Neifser und Verf. sehen sich auf Grund ihrer Versuche bereits zu der Annahme genötigt, dafs die Bakterien neben den fällbaren auch hemmende Stoffe enthalten, eine Ansicht, welche durch die experimentellen Arbeiten von Porges und Weil durchaus bestätigt wurde und dafs die Wirkung des spezifischen Agglutinins auf eine Ausschaltung dieses hemmenden Faktors zurückzuführen ist. Machen wir nun die Annahme, dafs die Bakterieu Eiweifs und elektronegative Kolloide (Nukleine) in einer Mischung enthalten,

1) a. a. O.

die in salzfreier Lösung stabil, durch Salze gefällt wird, so bleibt die Analogie zu den Kolloideiweifsfällungen gewahrt und gleichzeitig wird es verständlich, dafs das Agglutinin bei keiner Konzentration die Bakterien in salzfreier Lösung fällt. Diese Annahme ist natürlich zunächst rein hypothetischer Natur, es sei aber darauf hingewiesen, dafs Friedenthal und Verf.[1]) auf Grund anderer Tatsachen zu einer ganz ähnlichen Vorstellung über den Vorgang der spezifischen Präzipitation geführt wurden. Auch dort wurde die Annahme gemacht, dafs das präzipitierende Serum bereits die beiden Komponenten des Niederschlags (Eiweifs und einen histonartigen [?] Körper) enthält und dafs durch die präzipitable Substanz nur gewisse hemmende Einflüsse beseitigt werden. Es ergäbe sich so eine bemerkenswerte Übereinstimmung zwischen dem Vorgang der Präzipitation und der Agglutination, nur mit dem Unterschied, dafs bei den Präzipitaten die gefällte Substanz dem Immunserum, bei den Bakterien dem Antigen entstammt.

## Zusammenfassung der Resultate.

1. Salzfreies Eiweifs fällt mit allen untersuchten basischen und sauren Kolloiden.
2. Bei derselben Kolloideiweifsmischung hat Salzzusatz gleichzeitig einen hemmenden und fällungsbefördernden Einflufs. Der Erfolg hängt von dem Mengenverhältnis ab, in dem Kolloid und Eiweifs gemischt werden.
3. Die Schutzwirkung der Eiweifskörper stellt sich als ein Teil der Fällungskurve zwischen Eiweifs und Kolloid in salzhaltiger Lösung dar.
4. Anorganische Kolloide fällen auch elektrisch gleichsinnig geladenes Eiweifs.
5. Das Fällungsvermögen der Jonen ist eine Funktion ihrer dielektrischen Anziehung auf das Wasser.

1) Zeitschr. f. experim. Pathologie u. Therapie, Bd. III, S. 84.

6. Die Rolle der Salze bei der Präzipitinreaktion ist der bei der Kolloideiweifsfällung ähnlich.
7. Bakterien (Typhus, Koli, V. Metschnikoff) werden durch salzfreies Serum agglutiniert (bis 1:1000).
8. Es besteht in dieser Beziehung kein Unterschied zwischen Normal- und Immunseris.

Herrn Geh. Medizinalrat Prof. Dr. Rubner erlaube ich mir für das dieser Arbeit entgegengebrachte fördernde Interesse meinen ergebensten Dank auszusprechen.

# Der Einflufs der Verankerung des lytischen Ambozeptors auf die Zelle.

(Bemerkung zu der von Leuchs in diesem Archiv, Bd. 54, Heft 4, erschienenen Arbeit „Sind bei der bakteriziden Wirkung des Blutserums osmotische Vorgänge im Spiel?“)

Von

Privatdozent Dr. **E. Friedberger,**
I. Assistenten am Institut.

(Aus dem Kgl. Hygienischen Institut der Universität Königsberg i. P.
Direktor: Prof. R Pfeiffer.)

Im ersten Teil dieser aus dem Münchener hygienischen Institut hervorgegangenen Veröffentlichung berichtet G. Leuchs über den Einflufs osmotischer Schädlichkeiten auf mit Immunkörper beladene Bakterien im Vergleich zu Normalbakterien. Die Arbeit, die »keine gröfsere Hinfälligkeit der mit Immunkörper präparierten Danubikuskeime gegen osmotische Schädlichkeiten erwies«, schliefst sich an eine frühere gleichfalls aus dem Münchener hygienischen Institut erschienene Publikation von Röfsle[1]) an, der bei analogen Untersuchungen mit roten Blutkörperchen zu denselben Resultaten wie Leuchs gekommen war.

In der Arbeit von Leuchs ist nicht erwähnt, dafs ich in einer im Jahre 1904 im Zentralblatt für Bakteriologie, Abt. I, Bd. 37 Heft 1 erschienenen Arbeit »Ein Beitrag zur Wirkungsweise lytischer Immunkörper (Ambozeptoren)« bereits vor Röfsle derartige Versuche an mit Immunkörpern beladenen Blutkörperchen

1) Münchner med. Wochenschr., 1904, Nr. 42.

als auch namentlich an Bakterien angestellt habe. Nur habe ich nicht wie die beiden Autoren mich darauf beschränkt, ausschliefslich osmotische Schädigungen zu untersuchen, sondern habe, wenigstens für die Bakterien, auch schädigende Einflüsse anderer Art in den Kreis meiner Untersuchungen einbezogen.

Meine Resultate stimmen mit den späteren von Röfsle sowie Leuchs vollkommen überein, wie sich aus den folgenden Zitaten meiner Arbeit ergibt, die zugleich über die Art meiner Versuche genügend Aufschluſs gewähren:

»War diese Ehrlich-Pfeiffersche Anschauung richtig, so dürfte ein Bakterium, das sich mit spezifischem Ambozeptor beladen hatte, gegenüber Schädigung chemischer oder physikalischer Natur sich nicht anders verhalten wie ein ambozeptorfreies. Anders ist es nach der Auffassung Baumgartens, Grubers und auch Bordets. Nach ihnen bedeutet die Verankerung des Ambozeptors an das Bakterium bereits eine Schädigung seiner vitalen Energie, und es war zu erwarten, daſs darnach mit Ambozeptor beladene Bakterien gegenüber chemisch und physikalisch schädigenden Einflüssen weniger resistent, gewissermaſsen minderwertiger sich erwiesen, im Vergleich zu normalen.

Um diese Frage zu entscheiden, habe ich gleiche Mengen normaler und mit inaktiviertem Immunserum beladener Cholerabakterien der Einwirkung des Sublimates hoher Temperatur und verschieden prozentiger Kochsalzlösung unter sonst absolut gleichen Bedingungen ausgesetzt.

Die Sublimatversuche sollten als Prototyp für den Einfluſs einer rein chemischen Schädigung, die Versuche mit erhöhter Temperatur als solcher einer rein physikalischen, die Kochsalzversuche endlich als Prototyp einer osmotischen Schädigung dienen.« (l. c. p. 127.)

. . . . . »erschienen die Erythrozyten als ein Demonstrationsobjekt par excellence, wo es sich darum handelte, Differenzen in dem Einfluſs osmotisch wirkender Schädlichkeiten auf beladene und unbeladene Zellen zu studieren. Es wurden deshalb die Versuche mit Blutkörperchen ausschliefslich in dieser Richtung hin unternommen.« (l. c. p. 130.)

»Es zeigte sich keine Differenz zwischen den mit Immunserum behandelten und den anderen Erythrozyten bezüglich der Einwirkung hypertonischer und hypotonischer Salzlösungen.« (Ibid.)

»Meine Versuche dürften dazu geeignet sein, die Anschauung von der Schädigung eines Bakteriums bzw. einer Zelle durch die bloſse Verankerung eines spezifischen Ambozeptors zu widerlegen.« (l. c. p. 127.)

Königsberg i. Pr., den 27. Dezember 1905.

## Zusatz zu der vorstehenden Bemerkung Dr. Friedbergers.

Von

Prof. **Max Gruber.**

Die Versuche von Dr. Leuchs wurden zu gleicher Zeit mit den Versuchen Dr. Röfsles im Jahre 1904 angestellt; vor dem Erscheinen der Arbeit Friedbergers. Trotzdem ist der Prioritätsanspruch Dr. Friedbergers vollkommen berechtigt und es ist nur durch ein unliebsames Versehen geschehen, dafs die Abhandlung Friedbergers von Dr. Leuchs nicht zitiert wurde.